АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXII. ВЫП. 6

НОЯБРЬ—ДЕКАБРЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1953

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров,
В. Н. Шапошников

*ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ»
ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, УЛ. КУЙБЫШЕВА, 8
КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»*

Рукописи направлять по адресу:
...ва, Подсосенский пер., 21, Издательство Академии наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

СЕНТЯБРЬСКИЙ ПЛЕНУМ ЦК КПСС И ЗАДАЧИ МИКРОБИОЛОГИИ

С огромным воодушевлением встретил весь советский народ постановление сентябрьского Пленума Центрального Комитета КПСС и доклад Н. С. Хрущева «О мерах дальнейшего развития сельского хозяйства СССР».

В постановлении Пленума и в докладе Н. С. Хрущева дан научный марксистско-ленинский анализ современного состояния нашего сельского хозяйства.

Наши колхозы и совхозы неизмеримо выросли, окрепли и добились существенных успехов. Наше социалистическое сельское хозяйство является самым передовым и механизированным в мире.

Однако темпы развития сельского хозяйства были значительно ниже, чем темпы развития тяжелой промышленности.

В постановлении Пленума ЦК вскрыты объективные причины, вызвавшие несоответствие в темпах развития промышленности и сельского хозяйства, а также вскрыты причины, вызвавшие недостаточный уровень сельского хозяйства в целом и ряда важных его отраслей.

Постановление Пленума ЦК проникнуто всемерной заботой о благосостоянии советского человека. Главной задачей нашей партии является обеспечение неуклонного подъема благосостояния рабочих, крестьян и советской интеллигенции. Основная цель нашего производства заключается в максимальном удовлетворении постоянно растущих материальных и культурных потребностей советских людей.

Поэтому на современном этапе постепенного перехода от социализма к коммунизму улучшение питания населения, всемерное увеличение выпуска предметов широкого потребления и улучшение качества продукции являются самой насущной и важнейшей народнохозяйственной задачей.

Для осуществления этой исторической задачи необходимо добиться крутого подъема всех отраслей сельского хозяйства с тем, чтобы создать в ближайшие два-три года обилие продуктов питания и сырья для легкой промышленности.

Пленум наметил систему мероприятий, выполнение которых обеспечит в короткий срок ликвидацию недостатков в сельском хозяйстве.

Выработанная Пленумом ЦК КПСС программа мероприятий по преодолению отставания отдельных отраслей сельского хозяйства и подъема всего сельскохозяйственного производства в целом на новый, более высокий уровень ставит перед нашей наукой, в том числе и перед микробиологией, ряд серьезных задач.

В постановлении Пленума отмечается: «несмотря на известные достижения, сельскохозяйственная наука все еще отстает от запросов колхозного и совхозного производства. Многие научно-исследовательские институты и опытные станции ведут работу в отрыве от практики, замыкаются в узких рамках лабораторий и опытных полей, не обогащают науку и практику новыми открытиями и предложениями и мало помогают колхозам, МТС и совхозам в подъеме культуры земледелия и животноводства».

Одна из важнейших задач, поставленных пленумом перед работниками научно-исследовательских институтов и опытных станций, за

ся в том, чтобы как можно быстрее преодолеть отставание науки от запросов сельского хозяйства и усилить роль научных учреждений в оказании практической помощи колхозам, МТС и совхозам в дальнейшем подъеме всех отраслей сельского хозяйства.

Повышение урожайности всех сельскохозяйственных культур — главнейшая задача земледелия.

В осуществлении этой задачи почетную роль должна занять микробиологическая наука.

Основоположники отечественного почвоведения Докучаев, Костычев, Вильямс придавали большое значение деятельности почвенных микроорганизмов. Плодородие почвы ими рассматривалось как самое существенное ее свойство, находящееся в тесной зависимости от развития почвенной микрофлоры, продуктами жизнедеятельности которой осуществляется корневое питание высших растений.

Творческие усилия наших почвенных микробиологов должны быть направлены на дальнейшее развитие прогрессивных сторон учения Докучаева, Костычева, Вильямса. Основное внимание должно быть уделено углубленному изучению комплекса вопросов, связанных с уточнением роли отдельных групп почвенных микроорганизмов в почвенном питании растений, выяснению взаимоотношений почвенной микрофлоры с высшим растением и между собой, причем основной задачей должно ставиться овладение управлением почвенной биодинамикой с целью прогрессивного повышения плодородия почвы. Для успешного осуществления этой основной задачи необходимо более детальное изучение физиолого-биохимических свойств основных групп почвенной микрофлоры.

Среди комплекса мероприятий, которые должны обеспечить высокие и устойчивые урожаи и прогрессивное повышение плодородия почвы, важная роль принадлежит удобрениям, в том числе и бактериальным.

Советскими микробиологами проделана значительная работа по внедрению в практику земледелия ряда бактериальных удобрительных препаратов: нитрагина, азотобактерина, фосфоробактерина и др.

Однако до сих пор еще не вскрыта в должной мере биологическая сущность действия ряда препаратов, в особенности азотобактерина, и не установлены наиболее эффективные методы их применения.

Одна из важнейших задач, стоящих перед почвенными микробиологами, заключается в разработке высокоэффективных методов использования бактериальных, минеральных и органических удобрений.

Особое внимание должно быть уделено быстрому разрешению следующих вопросов:

1) углубленной разработке биологических основ использования бактериальных удобрений; усовершенствованию существующих способов их приготовления, а также разработке наиболее эффективных норм и способов их внесения в почву;

2) дальнейшей разработке вопроса о совместном применении бактериальных органических и минеральных удобрений;

3) выведению активных местных штаммов и приближению изготовления бактериальных удобрений к местам их применения.

Серьезного внимания заслуживает разработка вопросов, связанных с выявлением роли микробных удобрений и микроэлементов на развитие почвенной микрофлоры и питание растения.

Большое внимание должно быть уделено микробиологическим исследованиям, направленным на более эффективное усвоение травопольных севооборотов, роль которых весьма значительна как для получения высоких урожаев, так и для создания устойчивой кормовой базы для животноводства.

В постановлении Пленума ЦК КПСС указывается, что неблагополучное положение с развитием животноводства объясняется прежде всего отставанием производства и заготовки кормов.

Без создания устойчивой кормовой базы нельзя добиться резкого повышения продуктивности скота.

Директивы Пленума ЦК о необходимости уделения большого внимания выращиванию на силос кукурузы, подсолнечника, кормовой капусты и некоторых других культур ставят перед микробиологами задачу разработки более эффективных методов силосования кормов.

Немаловажное значение для успешного разрешения вопроса о создании устойчивой кормовой базы будет иметь разработка эффективных биологических методов обработки грубых кормов с целью улучшения их качества, поедаемости и усвояемости.

Серьезное внимание должно быть уделено разработке рациональных методов повышения содержания витаминов и других ценных веществ в кормах и кормовых препаратах.

В связи с этим следует усилить исследования по выведению высокоурожайных и богатых белками и витаминами рас кормовых дрожжей, по разработке эффективных способов приготовления и применения кормовых дрожжей, а также по получению высокоактивных препаратов рибофлавина и других витаминов, необходимых для выращивания молодняка и для птицеводства.

Серьезные задачи стоят перед ветеринарными микробиологами в области дальнейшего усовершенствования имеющихся и разработки новых эффективных способов борьбы с инфекционными заболеваниями сельскохозяйственных животных. Научно-исследовательским учреждениям и в первую очередь институтам Академии наук СССР, работающим над вопросами сельского хозяйства, надлежит особое внимание уделить расширению исследований, направленных на повышение земледелия и животноводства в нечерноземной полосе.

Всемерное расширение ассортимента и улучшение качества сырья и готовой продукции — одна из важнейших народнохозяйственных задач.

Успешное осуществление этой задачи требует от микробиологической науки дальнейшей углубленной разработки комплекса вопросов, связанных с усовершенствованием технологии переработки сельскохозяйственной продукции (переработки молока и молочных продуктов, льна, овощей, фруктов и т. д.).

Опыт непосредственной организации на льнозаводах обмолота и обработки льна показал, что при этом значительно увеличивается товарный выход волокна. В связи с этим ставится перед льнозаводами задача непосредственной организации у себя обмолота, очистки семян, мочки и переработки соломки льна. Перед микробиологами, работающими в области мочки льна, стоит задача разработать и внедрить на заводы более эффективные бактериальные закваски для мочки льно-соломки.

В деле повышения урожайности важное значение имеет разработка более эффективных мер борьбы с потерями сельскохозяйственных культур от болезней, вызываемых фитопатогенными грибами, бактериями и вирусами.

Наряду с дальнейшим усовершенствованием имеющихся мер борьбы с вредными для сельского хозяйства микробами перед микробиологами ставится задача изыскания новых, более эффективных мер. Должное внимание должно быть уделено изысканию биологических способов повышения полевой всхожести семян. При разрешении этих вопросов значительную помощь может оказать внедрение в сельское хозяйство антибиотиков и использование явления антагонизма между микробами. Немаловажное значение имеет также разработка мер эффективной борьбы с потерями при хранении и переработке сельскохозяйственных продуктов, вызываемыми микроорганизмами.

Большое внимание должно быть уделено внедрению в кратчайший срок в колхозную и совхозную практику достижений сельскохозяйственной микробиологии. Научные работники должны энергично добиваться внедрения уже имеющихся научных достижений.

Необходимо всемерно развивать и укреплять творческое содружество науки с производством.

Связь между научными работниками и практическими работниками сельского хозяйства должна стать постоянной и более тесной.

Серьезные требования предъявляются нашим специалистам, в том числе и микробиологам, в деле вооружения работников сельского хозяйства новыми знаниями, в деле повышения уровня культуры сельскохозяйственного производства.

Пленум ЦК особое внимание придает пропаганде и внедрению в производство достижений науки и передового опыта.

Необходимо значительно увеличить выпуск и резко улучшить качество литературы, особенно научно-популярной, по вопросам достижений современной общей, сельскохозяйственной, технической и пищевой микробиологии.

Первостепенное значение приобретает издание литературы о практических достижениях передовых колхозов и совхозов, о ценном опыте новаторов сельского хозяйства.

Для успешного осуществления задач, поставленных сентябрьским Пленумом ЦК КПСС перед советскими микробиологами, необходимо, чтобы их научно-исследовательская работа проводилась в тесной связи с исследовательской работой других специалистов: почвоведов, физиологов и биохимиков растений и животных и др.

Особо важное значение на данном этапе развития сельскохозяйственной науки приобретает координация деятельности всех научно-исследовательских учреждений страны, работающих по проблемам, связанным с сельскохозяйственным производством.

Велики и ответственны задачи, поставленные сентябрьским Пленумом ЦК КПСС перед советским народом.

Только социалистическое общество может ставить и успешно разрешать такие задачи. В этом коренное преимущество социалистического строя перед капиталистическим.

Можно со всей уверенностью сказать, что советские микробиологи приложат все усилия, чтобы в тесном содружестве с работниками колхозов, МТС и совхозов выполнить намеченную партией величественную программу дальнейшего развития сельского хозяйства нашей страны.

ФИЛЬТРУЮЩИЕСЯ ФОРМЫ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ. I

В. П. Израильский

Со времени открытия клубеньковых бактерий возник вопрос о том, как эти бактерии проникают внутрь клеток корневых волосков бобовых растений. Бактерии, проникая в клетку, не оставляют на ее стенках никаких видимых следов своего проникновения. Кроме того, специальными исследованиями многих авторов у клубеньковых бактерий не было обнаружено ферментов, растворяющих целлюлозу.

Еще в 1933 г. мы сделали предположение, что клубеньковые бактерии проходят через стенку клеток в фильтрующемся состоянии. Тогда же мы наблюдали очень мелкие, единичные и очень медленно растущие колонии среди колоний бактерий сои. Эти колонии, как мы полагаем, были те, что теперь вызывают G-формы. Бактерии фильтровались через бактериальные фильтры, а под микроскопом можно было наблюдать большое количество бактероидных форм.

О фильтрующихся формах клубеньковых бактерий известно очень мало. В 1933 г. Альмон и Болдуин (Almon a. Baldwin [3]) указали на прохождение через фильтры Беркефельда клубеньковых бактерий, причем некоторые из этих бактерий по внешней форме колоний были отличны от исходных штаммов этих микроорганизмов. Однако авторы почти не исследовали свойств бактерий, прошедших через фильтры, не было даже описания их микроскопического вида. Известно было только, что они не образовали клубеньков на корнях бобовых растений.

С другой стороны, известна другая работа, опубликованная также в 1933 г., в которой авторы Барсель и Бьелф (Barthel a. Bjelfve [4]) при всех попытках не могли получить фильтрующиеся формы у клубеньковых бактерий клевера.

Цель наших исследований — показать возможность получения фильтрующихся форм у клубеньковых бактерий, выявить их характеристику и проследить возможность образования ими клубеньков у бобовых растений, а также изменение клубеньковых бактерий при их фильтровании. Попутно мы старались путем аналогий в искусственных условиях объяснить процесс прохождения клубеньковыми бактериями стенок клеток в корневых волосках бобовых растений.

С первых же шагов наших исследований мы старались разграничить два процесса при фильтровании бактерий: прохождение бактерий через фильтры в клеточном состоянии, особенно при долговременном фильтровании, и прохождение в виде фильтрующихся форм, хотя надо признать, что не во всех случаях вполне точно можно было разграничить эти два процесса. Относительным критерием для признания фильтрующихся форм нам служила главным образом длительная задержка прорастания фильтратов.

Еще в 1949 г. мы профильтровали культуру клубеньковых бактерий клевера на бобовом отваре через свечу Беркефельда N и заразили в стерильных пробирках этими фильтрами несколько растений клевера. В результате мы получили клубеньки на всех экземплярах растений. Эти опыты заставили нас углубить дальнейшие исследования и применить при фильтровании культуры Bact. prodigiosum, чтобы не было

подозрения на неисправность фильтра, тем более что последний микроорганизм легко обнаружить на питательных средах.

Однако свеча Беркефельда при многократном фильтровании перестала пропускать бактерии и фильтраты перестали образовывать клубеньки на растениях.

После обработки свечи хлорной известью по методу Одюруа фильтраты снова стали давать на растениях клубеньки, хотя в фильтратах мы никогда не обнаруживали Bact. prodigiosum. Через эту же свечу до обработки хлорной известью мы фильтровали также и естественные клубеньки клевера, выросшего в почве. Эти клубеньки мы предварительно дезинфицировали в 0,1%-ном растворе сулемы с последующей промывкой в спирте и стерильной воде. Фильтраты, полученные таким образом, не давали на растениях клубеньков, однако эти фильтраты при долгом стоянии медленно образовывали очень тонкую муть. Такое помутнение происходило через два-три месяца. Если же часть таких фильтратов мы переносили на бобовый отвар, то помутнение возникало быстрее (две — четыре недели). Такие фильтраты, посеянные на бобовом агаре, образовали чрезвычайно маленькие колонии, однако попытки перевить эти колонии на пробирки с бобовым агаром в то время (1949 и 1950 гг.) оканчивались неудачами, так как бактерии очень быстро переставали расти.

Некоторые из этих бактерий под микроскопом обнаруживали бактероидные формы. На мясных средах эти бактерии совсем не обнаруживали даже следов роста. Эти опыты можно суммировать в следующей таблице.

Таблица 1

Образование клубеньков на корнях клевера от фильтратов клубеньков и клубеньковых бактерий и развитие бактерий в фильтратах

Материал для фильтрации	Фильтраты			
	Свечи Беркефельда до обработки хлорной известью		Свечи Беркефельда после обработки хлорной известью	
	образование мути в фильтрах	образование клубеньков	образование мути в фильтратах	образование клубеньков
Клубеньки, дезинфицированные сулемой, промытые стерильной водой и растертые	Помутнение фильтратов очень медленное. На агаре выросли очень мелкие и медленно растущие колонии бактерий, в некоторых колониях образуются бактероиды	—	—	—
Клубеньковые бактерии чистые культуры штамм 18	Фильтраты прозрачные	—	Медленное помутнение фильтратов. Изолированы кубеньковые бактерии	+ Образование клубеньков в разновременных опытах

Впоследствии мы испытывали свечи Беркефельда N, не бывшие никогда в употреблении. От этих свечей мы получали фильтраты в не-

сколько последовательных порциях и определяли в них количество прошедших через фильтр бактерий. В каждой порции было 7—8 мл фильтрата. Из всех опытов приведем наиболее показательные, так как они почти все давали сходные результаты.

Таблица 2

Количество клубеньковых бактерий клевера штамм № 69 в разных порциях фильтратов в 1 мл

Штамм бактерий	Порции						
	1	2	3	4	5	6	7
Клеверные клубеньковые бактерии штамм 69	0 0	0 0	0 0	0 0	1 0	255 0	7250 0

Как видно из табл. 2, клубеньковые бактерии клевера штамм 69 перешли только в пятую порцию, в этой порции была только одна бактерия в 1 мл, но уже в последующих порциях количество профильтровавшихся бактерий быстро увеличивается.

Из фильтратов № 5, 6 и 7 (табл. 2) были изолированы бактерии. Испытание их свойств и способность растворяться бактериофагом клевера показали, что мы имели дело с клубеньковыми бактериями клевера.

Обращаем внимание, что фильтрат № 5 прорастал очень медленно (три-четыре недели), причем ни в одном фильтрате не была обнаружена Bact. prodigiosum.

Таблица 3

Образование клубеньков на корнях клевера от фильтратов клубеньковых бактерий разных штаммов

Номера мембранных фильтров и штаммы клеверных бактерий	Образование клубеньков на корнях соответствующих растений
Мембрана № 1 штамм 18	—
„ № 2 „ 18	—
„ № 3 „ 18	+
„ № 4 „ 69	+

Кроме свечей Беркефельда, мы фильтровали клубеньковые бактерии через мембранные фильтры разных номеров. Из многочисленных опытов заражения растений фильтратами приводим только некоторые.

Образование клубеньков, как это указано в таблице, происходит только от фильтратов, прошедших через фильтры № 3. Фильтраты же от мембран № 1, 2 почти всегда остаются непроросшими и только фильтраты № 3 и 4 иногда прорастают и образуют клубеньки на растениях. Необходимо при этом еще раз указать, что Bact. prodigiosum ни в одном случае не была обнаружена.

Таким образом, эти опыты показывают, что при кратковременном фильтровании через мембрану (от 2 до 8 минут) бактерии не профильтровываются через мембраны № 1 и 2, могут проходить только через мембраны № 3 и 4.

Повидимому, через фильтры № 3 и 4, а также через фильтры Беркефельда N в предыдущем опыте бактерии могут проходить в мельчайшем состоянии в виде подвижных форм так называемых швермеров, так как эти фильтраты прорастали сравнительно быстрее, чем другие, хотя бы, например, те фильтраты, которые указаны в табл. 1 и из которых изолированы исходные клубеньковые бактерии.

Для того чтобы более приблизить наши опыты к тем процессам, которые происходят в действительности в естественных условиях образования клубеньков, мы решили изменить наши исследования с мембранами и поставить опыты методом наложения фильтров. Он состоял в следующем. На стерильный бобовый агар, застывший в чашках Петри при соблюдении асептических условий, мы накладывали мембранные фильт-

ры разных номеров, прокипяченные, как обычно, три раза в дистиллированной воде.

Фильтры укладывались так, чтобы между ними и поверхностью агара не было пузырьков воздуха. Мы наносили на середину одной мембраны культуру клубеньковых бактерий, на другую мембрану одного и того же номера, а иногда на ту же мембрану наносили культуру Bact. prodigiosum. Кроме мембранных ультрафильтров, мы в качестве контроля накладывали на агар вырезанные кружки бесцветного целлофана, также троекратно прокипяченные в дестиллированной воде и также зараженные клубеньковыми бактериями и Bact. prodigiosum. Чашки Петри с агаром и зараженными мембранами выдерживались в термостате определенное время, по истечении которого мембраны с выросшими на них бактериями удалялись с поверхности агара фламбированным пинцетом. После этого чашки снова ставились в термостат на один-два дня. Если бактерии проходили через фильтр, то на агаре вырастали колонии соответствующих бактерий, если нет, то агар оставался стерильным.

Таблица 4

Происхождение клубеньковых бактерий клевера и Bact. prodigiosum через мембранные фильтры

Рост бактерий на фильтрах 10 дней; среда—бобовый агар)

Мембраны	Бактерии	
	Bact. prodigiosum	Клубеньковые бактерии штамм 18/10
Целлофан	—	—
Мембрана № 2	—	+
„ № 3	+	+

Мы исходили из исследований старых авторов (Бейеринк, Пражмовский), которые наблюдали, что клубеньковые бактерии образуют на клетках корневых волосков как бы маленькие колонии, затем спустя уже некоторое время появляются внутри клетки бактериальные тяжи. Эти тяжи идут до противоположной стенки клетки, где образуются также колонии, после чего бактерии проходят в другую клетку, и т. д. Приводим результаты многих опытов, сведенных нами в несколько таблиц.

Из табл. 4 видим, что клубеньковые бактерии прошли мембраны, но не прошли целлофан, хотя рост колоний на целлофане был не меньше, чем на мембранах. Это показывает, что химические питательные вещества проходили через целлофан и служили для питания бактерий и образования колоний.

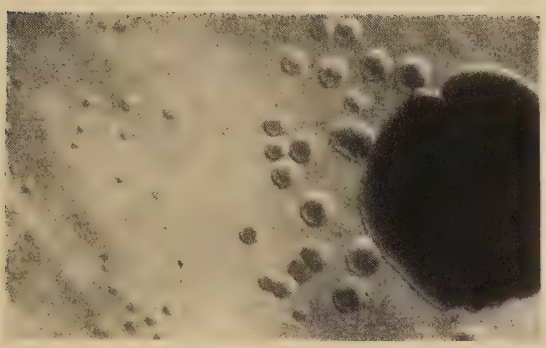
Bact. prodigiosum прошли только в одном опыте через мембрану № 3. Следующие опыты мы ставили с целью сокращения времени роста бактерий на поверхности мембраны.

Таким образом, мы видим, что клубеньковые бактерии могут проходить через мембранные фильтры и в некоторых опытах даже через 20 часов. При тех же условиях у Bact. prodigiosum этот процесс происходит с большим трудом, и только на агаре с МПА и в одном случае на бобовом агаре эти бактерии прошли через фильтр № 3 в течение 10 дней (табл. 5). Такое прохождение бактерий через мембраны, по нашему мнению, аналогично прохождению бактерий через стенку клетки корневых волосков бобовых растений и является специфическим процессом для клубеньковых бактерий.

Трудно пока сказать, в какой форме здесь бактерии проходят через мембранный фильтр, но, судя по быстроте развития бактерий, они скорее всего проходят в форме швермеров.

В дальнейшем необходимо брать мембраны более плотные, чем № 1, и определять их проходимость для бактерий и время, необходимое для этого процесса.

Фильтраты различных опытов были испытаны нами для более тщательных поисков фильтрующихся форм клубеньковых бактерий. Для этой



Рйс. 1. Колонии вторично регенерированных фильтрующихся форм клубеньковых бактерий клевера (мелкие колонии) вокруг «кормилки» (фото А. М. Мозгового)

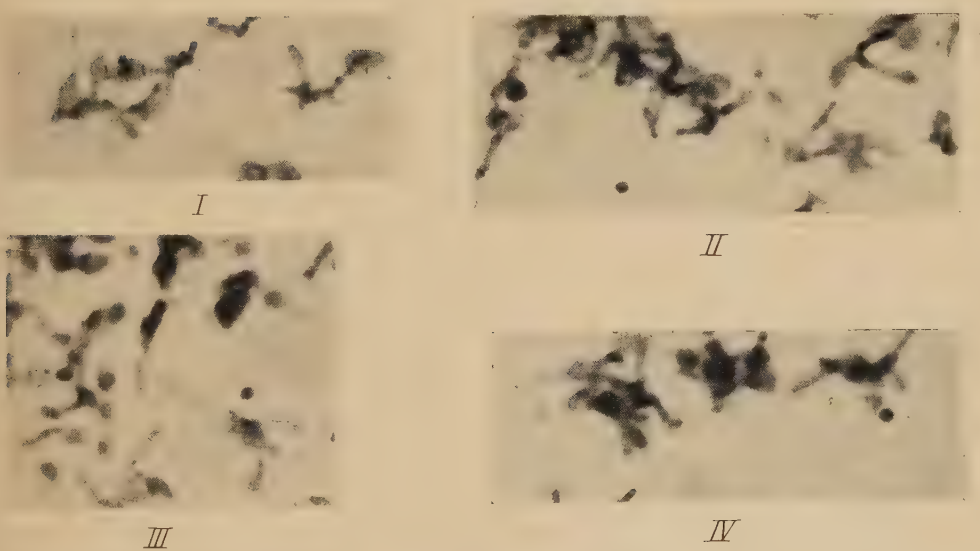


Рис. 2. Вторично регенерированные фильтрующиеся формы клубеньковых бактерий клевера. Ув. 1000х. Сильное развитие бактериальных форм (фото Н. И. Соловьева)

Таблица 5

Прохождение клубеньковых бактерий через целлофан и мембранные фильтры

(Постановка опыта та же; продолжительность роста бактерий на мембранах 3 дня, 24 часа и 20 часов)

Среда	Мембраны	Штаммы бактерий												Bact. prodigiosum
		18/10			18			2			69			
		3 дня	24 часа	20 часов	3 дня	24 часа	20 часов	3 дня	24 часа	20 часов	3 дня	24 часа	20 часов	
Бобовый агар	Целлофан	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Мембраны № 1	+			+	—		+	—		+	—		
	» № 2	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	—
	» № 3	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	—	+	—
МПА	Мембраны № 2													—
	» № 3													+

цели фильтраты старых культур бактерий клевера штамм 69 были проверены на стерильность путем перевивки фильтратов на бобовый отвар. Фильтраты бактерий, которые не проросли на бобовом отваре в течение двух-трех недель, мы высевали на бобовый агар. Бобовый агар также в большинстве случаев оставался стерилен, и только в некоторых случаях около случайно попавших из воздуха колоний бактерий развивалось очень много мелких и медленно растущих колоний (рис. 1). Эти мелкие колонии развивались лучше вблизи колоний-кормилок и, чем дальше от них, тем развитие было хуже и хуже.

При микроскопическом исследовании бактерий из таких медленно растущих колоний можно было видеть очень много бактероидных форм, причем самые контуры бактерий в висячей капле и в окрашенном мазке были чрезвычайно нежны и в некоторых случаях даже расплывчаты (рис. 2). В дальнейшем при пересевах на бобовом агаре бактерии стали развиваться лучше. На мясо-пептонных средах, а также на бобовом отваре эти бактерии не росли. Из всех этих свойств выросших бактерий мы заключили, что мы имеем дело с вторично регенерированными культурами фильтрующихся форм (Калина [1]), происшедших из бактериальных клеток клубеньковых бактерий или из живого вещества этих бактерий по О. Б. Лепешинской.

Колонии же из воздуха, вокруг которых развились фильтрующиеся формы, являются типичными кормилками по Сукневу. Опыты заражения этими бактериями (т. е. вторичными регенерированными культурами) растений клевера были отрицательные в смысле образования клубеньков. Впоследствии при долгом культивировании на искусственных средах (бобовый агар) бактерии постепенно перестают расти.

Однако рост их можно стимулировать на чашках Петри, выращивая их или со старыми кормилками, или с новыми, попавшими случайно из воздуха. В этих случаях вокруг некоторых кормилок вырастают штаммы, обладающие на агаре очень сильным ростом.

Все колонии вторично регенерированных культур обладают светло-желтым цветом, они полупрозрачные, очень мелкие, только очень немногие из них обладают сильным ростом. Выросшие колонии совершенно не похожи на колонии клубеньковых бактерий. Было уже указано, что

штаммы вторично регенерированных культур не растут на мясных средах, особенно на МПБ.

Это обстоятельство, а также образование бактероидов и происхождение их из фильтратов клубеньковых бактерий дают нам основание для того, чтобы считать их видоизменением клубеньковых бактерий.

В настоящее время у нас уже имеется много данных о том, что в большинстве случаев в фильтратах чистых культур клубеньковых бактерий часто развиваются вторично регенерированные культуры бактерий, что вполне можно установить микроскопически, но так же, как и в первых ранних наших опытах (табл. 1), они с большим трудом растут на питательных средах, кормилки же, долго бывшие в искусственных условиях, в конце концов совершенно теряют стимулирующее действие.

Пока мы не можем еще сказать, являются ли они стадией развития этих бактерий или мы имеем дело с изменением бактериальных форм, идущих за пределы вида. Мы все-таки склонны думать, что такие вторично регенерированные культуры и фильтрующиеся формы, из которых они произошли, имеют большое значение при заражении растений и образовании клубеньков, но для этого необходимо создать подходящие условия, которые имеются, повидимому, при естественном заражении растений.

Обсуждение результатов

При рассмотрении всех результатов опытов с фильтрованием и заражением растений невольно задаем вопрос, в каком состоянии проходят бактерии через фильтры? Наши опыты определенно показали, что клубеньковые бактерии клевера безусловно образуют фильтрующиеся формы, которые дают вторичные регенерированные культуры (рис. 2), но эти культуры при испытании их на образование клубеньков дали отрицательный результат. Пока еще нам не удалось показать, какое значение имеют фильтрующиеся формы бактерий, и это подлежит дальнейшему исследованию. С другой стороны, в наших опытах были случаи, когда фильтраты бактерий образовывали клубеньки на соответствующих растениях, причем ни в одном из таких опытов не была обнаружена Bact. prodigiosum, фильтраты же в таких случаях прорастают очень медленно (табл. 1).

Мы можем предположить, что фильтрующиеся формы бактерий Rhizobium могут быть неодинаковы, в одних случаях прорастают в клубеньковые бактерии, а в других случаях превращаются в бактерии, полученные нами вокруг кормилок. Действительно, фильтрующиеся формы бактерий, по выражению Калины [2], становятся организмами с расшатанной наследственностью и культура их, таким образом, становится более неоднородной, чем исходная.

Конечно, не исключается возможность, что клубеньковые бактерии проходят через фильтры, а также и через стенки клеток корневых волосков в стадии швермеров, о чем мы писали выше.

Выводы

Клубеньковые бактерии могут проходить через мембранные фильтры, а также через свечи Беркефельда в виде фильтрующихся форм бактерий. Среди последних некоторые регенерируют в исходные формы, у других же регенерация происходит очень медленно и скорость их роста зависит от стимулирующих веществ, выделяемых другими бактериями-кормилками. Первые образуют клубеньки на растениях, а вторые регенерированные формы клубеньков не дают. Не исключена возможность

прохождения через фильтры и клетки корневых волосков клубеньковых бактерий в стадии так называемых швермеров.

Московское отделение Всесоюзного
научно-исследовательского института
сельскохозяйственной микробиологии

Получено 9.III.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калина Г. П. Изменчивость патогенных микроорганизмов. Киев, 1949.
2. Калина Г. П. Стадийное развитие бактерии — объективная реальность. Микробиология, XXII, 95, 1953.
3. Almon L. a. Baldwin J. The stability of cultures of Rhizobium. J. Bact., 26, 229, 1933.
4. Barthel C. och Bjelfve G. 1933. Undersökninger rörande förekomsten av filtrabla former hos B. radicicola. Meddel. № 432 Centralanst. försöksv. jordbrunksomradet bact. avdelningen, № 60, 23 p. Цит. по Allen E. a. Allen O. Bact. Rev., 14, (4) 273, 1950.

ГИГАНТСКИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ И ФИЛЬТРУЮЩИЕСЯ ФОРМЫ

Л. И. Солнцева

За последние два года резко возрос интерес к неклеточным формам жизни микроорганизмов. К ранее опубликованным исследованиям о фильтрующихся формах микробов были добавлены многочисленные работы, в которых сообщалось о прохождении через фильтр мельчайших форм у различных видов бактерий. Одна констатация существования фильтрующихся форм у бактерий уже не могла удовлетворить исследователей. Возникал вопрос о биологическом значении фильтрующихся форм. Представляют ли они собой стадии развития бактерий, как думают некоторые, или это «осколки», комочки плазмы, не имеющие клеточного строения, способные потом регенерировать в клетки? Дискуссии по этому вопросу иногда ведутся без достаточных экспериментальных доказательств. В качестве веского аргумента в пользу теории «осколочного» происхождения фильтрующихся форм служат опыты, в которых количество положительных фильтраций резко возрастает после разрушения бактериальной клетки тем или иным способом. С этой целью уже применялось растирание клеток с песком или стеклом, разрушение с помощью ультразвука и т. п. Существует также метод разрушения клеток с помощью действия солей. Этот метод интересен в двух отношениях. Во-первых, он вызывает вначале образование гигантских шаровидных клеток, достигающих иногда размеров дрожжевой клетки. Некоторые зарубежные ученые Эндерлейн, Лёнис (Enderlein, Lohnis [3, 4]) видят в этих гигантских клетках прогрессивные (эволютивные) формы. Подробнее биологическое значение этих форм освещено в другом месте (Имшенецкий [2]). Во-вторых, под влиянием непрекращающегося действия солей все клетки в культуре вздуваются и лопаются. Остаются продукты распада настолько мелкозернистые, что были все основания подвергнуть культуральную жидкость, содержащую эти продукты распада, фильтрации. Результаты исследований и составляют содержание данной статьи.

Экспериментальная часть

Исследования были проведены с двумя видами бактерий: Bac. mycoides и Bact. coli. Методика опытов была следующей. Односуточная культура Bac. mycoides с МПА засевалась в пробирки с МПБ, содержащем $MgSO_4$ в количестве 0,5 М. После двухсуточного развития на этой среде вся культура целиком фильтровалась через фильтр Зейтца с асбестовой прокладкой «СФ». Фильтрат поступал непосредственно в Эрленмейеровскую колбу — приемник на 100 мл с 50 мл МПБ. Засеянный фильтратом МПБ в колбе выдерживался в термостате при 25—28° продолжительное время (2—3 месяца). Ватная пробка колбы закрывалась бумажным колпачком. Посевы в колбах просматривались ежедневно. Контролем служил фильтрат культуры Bac. mycoides, но выращенной на обычном МПБ без $MgSO_4$ и посеянный в колбы с МПБ. При данной методике при долгом стоянии колб происходило подсыхание среды и наблюдалось выпадение кристаллов $MgSO_4$, концентрация которого в кол-

бе сразу же после фильтрации становилась довольно высокой (0,5—0,6%) и могла тормозить развитие фильтрующихся форм. Поэтому в последующих опытах методика была изменена. После развития Bac. mycoides на МПБ с $MgSO_4$ жидкость осторожно сливалась, а к хлопьевидному осадку добавлялся свежий МПБ, не содержащий $MgSO_4$. Дальнейшая фильтрация производилась так же, как и в предыдущих опытах. Всего было проведено 23 опыта с $MgSO_4$, из них 11 опытов без отмывания осадка от сернокислого магния и 12 с отмыванием. Контрольных опытов, т. е. опытов с культурой, выросшей на обычном мясопептонном бульоне без $MgSO_4$, было поставлено 18.

Следующая серия опытов была проведена с Bact. coli и Bac. mycoides, развивающимися на среде с LiCl. Культуры этих бактерий выращивались в течение двух суток при 25—28° на МПА с 0,5 М LiCl в пробирках, после чего делался смыв 5 мл МПБ. В дальнейшем смытые культуры фильтровались или через фильтр Зейтца, или свечу Шамберлена L_3. Посев фильтрата производился или на МПБ, как было описано выше, или же в количестве 1,5 мл на МПА в колбе. Для этого бралась эрленмейеровская колба на 500 мл с 50 мл МПА, при этом диаметр дна колбы был равен 10 см. Таким образом, мы имели поверхность со средой для посева, соответствующую диаметру чашки Петри. Колбы с агаром, так же как и в предыдущих опытах с бульоном, были соединены с фильтровальным прибором, с целью избежать внесения инфекции во время посева, и в таком виде стерилизовались. Профильтрованная культура непосредственно поступала в колбу и путем вращения последней тщательно распределялась по поверхности агара. Всего было проведено 12 опытов с культурой Bact. coli, причем посевы выдерживались в термостате при 28° в течение 2,5—3 мес. В опытах, в которых посев фильтрата производился на МПА, находящийся в колбах, фильтрация культуры Bact. coli проводилась через фильтр Зейтца. С этой культурой было проведено еще 16 фильтраций через фильтр Зейтца с посевом фильтратов на МПБ и 21 фильтрация через свечи Шамберлена L_3, также с посевом на МПБ. Все эти опыты выдерживались в термостате в течение 2,5—3 месяцев. Данные об условиях, в которых были проведены эти опыты, приведены в таблице.

Таблица

Фильтрация культур Bact. coli и Bac. mycoides, подвергавшихся действию LiCl и $MgSO_4$

Культура	Среда, на которой выращивалась культура	Способ фильтрации	Среда, на которой производился посев фильтрата	Количество опытов
Bacterium coli	МПА с 0,5 м LiCl	Фильтры Зейтца с асбестовыми пластинками „СФ“	МПА	12
	То же	То же	МПБ	16
	„	Свечи Шамберлена L_3	„	21
Bacillus mycoides	МПА с 0,5 М LiCl	Фильтры Зейтца с асбестовыми пластинками „СФ“	МПБ	9
	МПБ с 0,5 М $MgSO_4$	То же	„	23
	МПБ	„	„	18
Итого				99

При микроскопии 48-часовых культур Bact. coli и Bac. mycoides, выращенных на средах с LiCl или $MgSO_4$, можно было наблюдать образование большого количества гигантских шаровидных клеток, легко разрушающихся, благодаря чему, помимо целых клеток, всегда имелось большое количество детрита в виде зерен и плазмы. Представление о микроскопических картинах дают снимки, сделанные при увеличении в 24,500 раз с помощью электронного микроскопа (рис. 1 и 2).

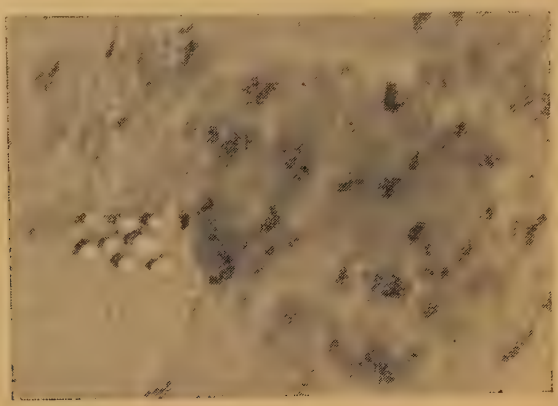


Рис. 1. 3-суточная культура Bact. coli на МПА с 0,5 М LiCl. Ув. 24 500 ×

Рис. 2. 3-суточная культура Bac. mycoides на МПА с 0,5 М LiCl. Ув. 24 500 ×

Можно было предполагать, что в таком детрите находятся частицы, проходящие через фильтры и при посеве фильтратов на свежие среды, могущие превратиться снова в исходные культуры. Имеется ряд работ (Жолкевич [1] и др.), указывающих, что гигантские формы, возникающие под действием внешних факторов, являются репродуктивными и содержат фильтрующиеся формы, которые в дальнейшем превращаются снова в исходную культуру. В наших исследованиях это не было подтверждено. Ни в одном случае не наблюдалось прорастание фильтратов и образование культур Bact. coli или Bac. mycoides. Следовательно, в детрите, образующемся под влиянием такого неблагоприятного фактора, как действие солей, несмотря на полное разрушение клетки, не увеличивается количество частиц живого вещества, не имеющих клеточного строения и проходящих через фильтр. Дальнейшие исследования по разруше-

нию бактериальных клеток с помощью ультразвука или низких температур должны выяснить, в какой степени теория «осколков» может считаться обоснованной.

В заключение приношу искреннюю благодарность за указания в работе проф. А. А. Имшенецкому.

Выводы

1. Под влиянием сернокислого магния или хлористого лития у Bac. mycoides и Bact. coli наблюдается образование гигантских шаровидных клеток, подвергающихся в дальнейшем разрушению. В результате действия солей культуры превращаются в мелкозернистый детрит.

2. Образование мелкозернистого детрита не привело к появлению в нем фильтрующихся форм, проходящих через бактериальные фильтры.

3. Полученные результаты подтверждают ошибочность теории циклогении, считающей гигантские клетки, возникающие под влиянием соли, за эволютивные (репродуктивные) формы, содержащие жизнеспособные частицы.

4. Под влиянием солей резко изменяются обычные свойства протоплазмы бактерий, и это, возможно, привело к отсутствию жизнеспособных фильтрующихся форм в культуре.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 25.I.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жолкевич А. Проблема реактивных форм у бактерий в свете учения О. Б. Лепешинской. Успехи совр. биологии, XXXIII, 101, 1952.
2. Имшенецкий А. Строение бактерий. Изд-во АН СССР. М.—Л, 1940.
3. Enderlein G., Bakterien — Cyclogenie, Berlin und Leipzig, 1925.
4. Lohnis E. Studies upon the life cycles of the bacteria. Mem. Nat. Ac. Sci., 16, 1, 1922.

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ. II

Е. А. Штерн

В первом сообщении была дана общая серологическая характеристика семи представителей клубеньковых бактерий. Показано, что имевшиеся в нашем распоряжении клубеньковые бактерии распались на две серологические группы: первая группа — бактерии люцерны, донника, клевера, вики и вторая группа — бактерии конских бобов, фасоли и гороха.

Установлено, что обе группы имеют общий термостабильный (глубокий) антиген и что каждая серологическая группа характеризуется соответствующим ей набором термолабильных и термостабильных (поверхностных) антигенов.

Таблица 1

Схема термостабильных антигенов бактерий люцерны

Штаммы бактерий люцерны	Обозначение антигенов
409	2, 5, 6
410	1, 3, 4, 5, 6
411	1
412	1, 5, 6
414	1, 2, 3, 5, 6
420	1, 2, 3, 6
436	2, 3, 4, 5
418	(1)*, 2, 5, 6
421	1, 2, 5, 6
437	1, 5, 6
419	3, 4

* В скобках — „продуцирующий антиген". К продуцирующим антигенам относятся вещества, которые обладают способностью вызывать образование антител в организме, но не связывать их in vitro.

Дальнейшее изучение серологических особенностей клубеньковых бактерий проводилось нами подробно для каждой группы микробов. Всего было изучено 92 штамма.

Изучение бактерий люцерны показало, что разные культуры неодинаково реагируют с иммунсыворотками люцерны вплоть до полного отсутствия агглютинации у одного штамма (419).

Под термолабильным антигеном, обозначенным в первоначальной схеме буквой a (I, сообщение [1]), следует понимать не один, а группу антигенов, которые встречаются у различных бактерий люцерны в различных сочетаниях и количествах.

Этим объясняется различная интенсивность реагирования культур с той или другой сывороткой. У штамма 419 следовало полагать отсутствие этих общих для бактерии люцерны термолабильных антигенов.

Серологический анализ термостабильных антигенов показал, что принятая вначале схема (c и b) [1] является упрощенной, так как можно было дифференцировать более многочисленный набор термоустойчивых агглютиногенов, которые встречаются в различных сочетаниях у различных культур люцерны (табл. 1).

Культуры бактерий клевера на основании реакции связывания комплемента удалось разбить на две серологические группы. Было показано, что каждая из культур обладает определенным набором антигенов, которые встречаются в иных сочетаниях у других культур той же группы (табл. 2).

Таким образом, за счет общих антигенов устанавливалась серологическая связь между культурами одной и той же группы.

Вместе с тем некоторые штаммы первой группы имели общие антигены с культурами второй группы.

Так, все штаммы бактерий клевера оказывались серологически связанными между собой. Бактерии донника были разделены на две серологические группы с одним общим глубоким термостабильным и различными термолабильными и термостабильными антигенами (табл. 3).

Таблица 2

Схема антигенного строения бактерий клевера

Штаммы бактерий клевера	Обозначение антигенов первой группы
1	a ***l**** n p
41	l ***m***
45	***l*** m
329	***a m*** n ***p***
338	p
331	a p
34	l
46	l
323	m

* Жирным шрифтом обозначены связывающие гаптены. Гаптенами или связывающими антигенами называются вещества, которые обладают способностью реагировать с образовавшимися антителами, но не могут самостоятельно вызвать в организме образование антител.

Для бактерий вики было показано, что они также объединены общей антигенной характеристикой. Кроме того, было установлено, что отдельные антигенные компоненты встречаются в различных сочетаниях и представлены в одних культурах как полные антигены, в других — в качестве гаптенов. Культуры гороха распались на три группы: основную группу, группу афганских горохов и промежуточную группу (табл. 4).

Как видно из табл. 4, основная группа и группа афганских горохов резко различались по серологической характеристике и не имели общих антигенов. Однако серологическая связь между этими группами устанавливалась за счет нескольких культур, которые реагировали с сыворотками афганских горохов и с теми или другими сыворотками основной группы.

Следующий раздел работы был посвящен выяснению серологических связей между бактериями, перекрестно заражающими растения, как, например, люцерна — донник, вика — горох и не заражающими — люцерна — клевер.

Таблица 3

Схема антигенного строения бактерий донника

Серологические группы	Антигены		
	термолабильные	термостабильные	
		поверхностные	глубокие
I	б	г	к
II	з	ж	к

Табл. 5, 6 и 7 демонстрируют серологические связи между бактериями люцерны и донника.

В табл. 5 даны результаты опытов агглютинации с 4 сыворотками люцерны и с одной сывороткой донника первой группы.

Как показано в табл. 5, две сыворотки люцерны почти не реагировали с бактериями донника. Сыворотка 431 агглютинировала все культуры донника второй группы, не реагируя с бактериями первой группы. Наоборот, сыворотка 419 реагировала со штаммами первой группы, но не агглютинировала культур второй группы.

Таким образом, уже первые опыты указывали на существование серологических связей между бактериями люцерны и донника.

Необходимо отметить, что эти связи устанавливались как раз за счет тех сывороток люцерны, которые либо стояли особняком, не реагируя с другими бактериями люцерны (сыворотка 419), либо были слабо связаны с общим набором культур (сыворотка 431).

Таблица 4

Схема антигенного строения бактерий гороха

Серологические группы	Штаммы бактерий гороха	Антигены	
		лабильные	стабильные
Основная группа	1	7,8 ***11****	9. 10
	242	7 11	9 ***10***
	231	7	10
	248		7
Группа афганских горохов	201	12	13
	204	12	13
	208	12	13
	209	12	13
Промежуточная группа	235	12,11	13
	249	12	7, 13

* См. обозначения к табл. 2.

Таблица 5

Опыт прямой агглютинации сыворотками

Штаммы бактерий донника	Сыворотка донника, № 1	Сыворотки люцерны			
		419	413	413	1
266	++	++	—	—	—
268	+++	+	—	+	—
269	+++	++	—	—	—
271	++	+	—	—	—
1	+++	+	—	+	+
272	—	—	++	—	—
273	—	—	++	—	—
274	—	—	++	—	—
275	—	—	+	—	—
276	—	—	++	—	—
		—			

Примечание. +++ агглютинация до титра; ++ агглютинация в пределах $^1/_2 — ^1/_4$ титра; — отрицательный результат.

Опыты по реакции связывания комплемента показали, что сыворотка 419 давала такие же результаты, как и в агглютинации. Иные данные были получены с сывороткой люцерны 431.

Как показано в табл. 6, эта сыворотка реагировала в реакции связывания комплемента не только с культурами второй группы донника, но также и с бактериями первой группы, которые дали отрицательные результаты при агглютинации.

В опытах адсорбции истощение сывороток производилось полисахаридом, извлеченным из микробных тел, так называемым экстракт-антигеном.

Методика приготовления экстракт-антигена была следующей.

Культура клубеньковых бактерий густо засевалась на 10 чашек бобового агара. Через двое суток микробная масса смывалась дестиллированной водой и центрифугировалась. Осадок бактериальной массы заливался 5 мл N/20 HCl и кипятился в водяной бане в течение 40 минут. После центрифугирования прозрачная жидкость нейтрализовалась NaOH и вновь центрифугировалась для удаления выпавшего осадка. Полученный прозрачный экстракт служил антигеном.

Методика истощения была такова. К испытуемой сыворотке прибавлялся экстракт-антиген в соотношении 1 : 5. После тщательного взбалтывания пробирка помещалась на 2 часа в термостат (37°) и затем на 16 часов в рефрижератор. По окончании срока насыщения смесь сыворотки и экстракт-антигена центрифугировалась, после чего жидкость отсасывалась и разводилась 5 объемами дестиллированной воды; затем через нее в течение 15—20 минут пропускался углекислый газ. Далее жидкость центрифугировалась, и к ней добавлялась поваренная соль из такого расчета, чтобы содержание ее в этой жидкости соответствовало содержанию в нормальной кроличьей сыворотке.

Сыворотка 419 после истощения экстракт-антигеном из культуры донника 266 не реагировала ни в реакции связывания комплемента, ни в опытах агглютинации с живыми и кипяченными бактериями донника.

Сыворотка 431 истощалась полисахаридом (экстракт-антигеном), извлеченным из бактерий донника 266, принадлежащим к первой группе, и из культуры № 272, отнесенной ко второй группе.

После этого каждая обработанная сыворотка испытывалась в реакции связывания комплемента и агглютинации со всеми 10 культурами бактерий донника.

Оказалось, что обработка полисахаридом, извлеченным из культуры 272, истощала сыворотку полностью в отношении всех культур бактерий донника. В то же время сыворотка 431, обработанная полисахаридом, извлеченным из штамма 266, продолжала реагировать в реакции связывания комплемента и агглютинации с бактериями донника второй группы (табл. 7).

Таблица 6

Реакция связывания комплемента с сывороткой люцерны 431

Штаммы бактерий донника	Живые культуры
266	2+
268	2+
269	2+
271	2+
1	+
272	3+
273	3+
274	4+
275	4+
276	4+

Примечание. 4+ полная задержка гемолиза; 3+ ясная задержка; 2+ частичная задержка; + слабая задержка; — отрицательный результат.

Таким образом, удалось показать, что у бактерий донника первой серологической группы и у культур люцерны 419 имеются общие полисахариды, которые отсутствуют у бактерий донника второй серологической группы. В свою очередь общие полисахариды имеются у бактерий люцерны 431 и у донника второй серологической группы.

Дополнительными адсорбционными и агглютинационными опытами было установлено, что между бактериями люцерны и донника имеется отчетливая серологическая связь. Эта связь в одних случаях осуществляется за счет термолабильных антигенов, в других — за счет термостабильных и, в третьих, наконец, за счет тех и других.

Изучение серологических взаимоотношений между бактериями гороха и вики было начато с реакции агглютинации, причем исследования проводились с бактериями гороха и сыворотками вики и, наоборот, с бактериями вики и сыворотками гороха. В этих опытах обращало на себя внимание то, что сыворотки вики резко агглютинировали культуры афганских горохов, которые не реагировали с сыворотками обычных сортов гороха.

Дальнейшие исследования показали существование серологической связи между бактериями вики и гороха и позволили представить такую схему общих антигенов для этих культур (табл. 8).

Таблица 7

Агглютинация и реакция связыванием комплемента с сывороткой 431

Штаммы бактерий донника	Агглютинация				Реакция связывания комплемента	
	истощение экстракт-антигеном 266		истощение экстракт-антигеном 272		истощение экстракт-антигенами:	
	Культуры					
	живые	кипяченые	живые	кипяченые	266	272
266	—	—	—	—	—	—
268	—	—	—	—	—	—
269	—	—	—	—	—	—
271	—	—	—	—	—	—
1	—	—	—	—	—	—
272	±	—	—	—	+	—
273	+	+	—	—	+	—
274	++	+	—	—	1—2+	—
275	++	+	—	—	1—2+	—
276	++	+	—	—	2+	—

Таблица 8

Схема антигенного строения бактерий вики и гороха

Штаммы бактерий		Антигены			
Вика	1	I	11	—	—
	130	—	***11****	$12_1 12_2$	13_1
	133	—	11	$12_1 12_2$	13_1
	120	—	11	12_1	13_1
Горох	201	***1***	—	$12_1 12_2$	$13_1 13_2$
	208	***1***	—	$12_1 12_2$	$13_1 13_2$
	209	***1***	—	$12_1 12_2$	$13_1 13_2$
	242	—	11	—	—

* Обозначения те же, что и в табл. 2.

Серологическая связь между бактериями люцерны и клевера менее отчетлива, чем между бактериями перекрестнозаражающими растения.

Однако и в этом случае удается установить серологическую связь. Эта связь осуществляется не за счет основных антигенных компонентов бактерий клевера и люцерны, а за счет так называемых дополнительных антигентов, которые были представлены далеко не в каждой культуре.

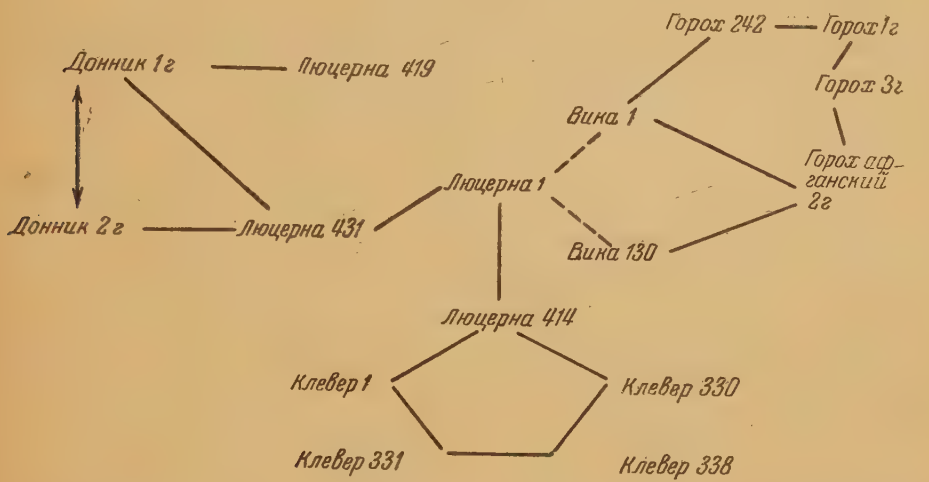
В итоге взаимоотношения между различными представителями клубеньковых бактерий могут быть представлены в виде следующей схемы (табл. 9).

Бактерии донника, как уже указывалось, распались на две серологические группы. Однако между этими группами имеется серологическая связь за счет общих стабильных антигенов.

Культура люцерны 419 стояла особняком среди остальных штаммов этого микроба, так как она не агглютинировалась сыворотками люцерны,

а сыворотка люцерны 419 не реагировала с другими культурами люцерны. Штамм люцерны 419 тесно связан с бактериями донника первой серологической группы за счет термолабильных и термостабильных антигенов.

В то же время бактерии донника первой серологической группы за счет общих термостабильных антигенов связаны со штаммом люцерны 431. Последний, с одной стороны, связан за счет общих термолабильных и термостабильных антигенов с донником второй серологической группы и, с другой стороны,— с бактериями люцерны 1.



Культура люцерны 1 непосредственно не связана с бактериями клевера. Однако у этой культуры имеются общие антигены со штаммом люцерны 414, который резко агглютинирует ряд культур клевера.

Таким образом, и в этом случае удалось показать существование серологических связей.

Бактерии гороха были разбиты на три серологические группы: основную группу, группу афганских горохов и третью промежуточную группу.

Основная группа и группа афганских горохов резко отличались между собой и не имели общих антигенов. Однако связь между этими группами устанавливалась за счет промежуточных культур, которые имели общие антигены с бактериями афганских горохов и бактериями основной группы гороха.

Вместе с тем бактерии афганских горохов оказались в серологическом отношении тесно связанными с бактериями вики. Кроме того, культура вики 1 имела общие антигены с культурой гороха 242, отнесенной к основной группе.

Таким образом, устанавливалась серологическая связь и между культурами основной группы гороха и бактериями вики.

Из этой схемы мы видим, что различные представители клубеньковых бактерий связаны между собой.

Возникает вопрос, можно ли на основании полученных данных объединить клубеньковые бактерии в один род или вид.

Нам кажется, что по аналогии с патогенными микробами для решения этого вопроса было бы важно и в данном случае сочетать серологические данные с патогенетическими, т. е. со способностью заражать растение.

Однако надо помнить, что патогенетические отличия (так же, как и антигенные) являются продуктом эволюции, вырабатываются условиями существования и приспособления микробов, а потому отражают дифференцировку видов.

Полученные нами результаты дают основание полагать, что клубеньковые бактерии принадлежат к одному роду, отдельные виды которого находятся в стадии дифференцировки.

При таком предположении становятся понятными отличия между теми представителями, которые далеко ушли один от другого (донник-горох), происходящая дифференцировка среди бактерий одного и того же растения, связанная с экологическими признаками (афганские и обычные горохи) и наличие связывающих звеньев, которые показывают родство между отдельными видами этого рода.

Конечно, при решении такого сложного вопроса, как установление понятия вида или рода в микробиологии, одного серологического метода исследования недостаточно.

Этот вопрос может решаться лишь на основании положений мичуринской биологии о межвидовых и внутривидовых взаимоотношениях при сочетании серологических данных с патогенными, культуральными, морфологическими и биохимическими свойствами микробов.

Выводы

1. Клубеньковые бактерии обладают весьма сложным набором термолабильных и термостабильных антигенов.
2. В серологическом отношении клубеньковые бактерии одного и того же растения неодинаковы. Образуя две или три серологические подгруппы, разные культуры в то же время связаны между собой за счет общих антигенов.
3. Общие антигены имеются не только у разных штаммов одной и той же разновидности клубеньковых бактерий, но и у бактерий разных видов бобовых растений.
4. Антигенная характеристика клубеньковых бактерий показывает, что эти микробы серологически связаны между собой.

Институт экспериментальной медицины АМН СССР
Ленинград

Получено 8.XII.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Штерн Е. А. Серологическая характеристика клубеньковых бактерий. I. Микробиология, XXII, 423, 1953.

ПРОДУКТИВНОСТЬ АЗОТФИКСАЦИИ АЗОТОБАКТЕРА СИБИРСКИХ ПОЧВ

Г. Н. Блинков

Многочисленными исследованиями выяснено, что количество усваиваемого азотобактером азота крайне непостоянно: «нормальная» или «стандартная» продуктивность азотфиксации, которую дает азотобактер в условиях, наиболее близких к природным, колеблется, согласно исследованиям Виноградского [4], всего лишь в пределах между 9 и 11 мг азота на 1 г энергетического вещества, но при изменении условий от этой нормы могут быть очень большие отклонения.

На усвоение азота исключительно благотворно влияет аэрация: путем усиления аэрации питательной жидкости Омелянскому [10] удалось повысить продуктивность азотфиксации с 0,71 до 5,1 мг азота и Буткевичу в сотрудничестве с Колесниковой [3] — с 10 до 30 мг азота. Не менее благотворно влияют гуминовые вещества: в присутствии жирной земли по опытам Кржемьеневского (Krzemieniewsky [15]) выход связанного азота составил 17 мг и по опытам Костычева в сотрудничестве с Рыскальчук и Швецовой [5] — 25 мг на 1 г потраченного энергетического вещества. Добавление в питательную среду солей азота оказывает на азотфиксацию отрицательное действие: по исследованиям Краинского [6], Костычева с сотрудниками [5] и других в присутствии даже небольшого количества этих солей азотобактер не связывает атмосферный азот.

В отношении влияния концентрации энергетического материала мнения расходятся: Омелянский [10] приходит к выводу, что в процессе фиксации азота экономное расходование малых доз углеродистого вещества является правилом, но исследованиями Виноградского [4] этот вывод не подтверждается. Федоров [14] установил, что продуктивность фиксации молекулярного азота азотобактером в значительной мере колеблется в зависимости от источника углеродного питания и дозировок различных макро- и микроэлементов. Блинковым [1 и 2] доказано, что продуктивность и интенсивность азотфиксации в сильной степени зависят от реакции среды: наилучшие показатели получаются при выращивании азотобактера на нейтральных и слабощелочных средах, а на кислых и резко щелочных средах они снижаются. Есть указания (Омелянский [10] и Федоров [14]), что некоторое положительное или отрицательное влияние на фиксацию азота азотобактером оказывает подсев к его культуре других почвенных микробов.

Под влиянием внешних условий азотфиксирующая способность азотобактера подвергается не только индивидуальной, но и наследственной изменчивости. Например, Рубенчик и Ройзин [11], культивируя Azotobacter chroococcum на средах со связанным азотом, превратили его в неактивную форму, не способную фиксировать азот. Мишустин в сотрудничестве с Бахаревой [8] и с Семенович [9]) добился инактивации азотобактера, выдерживая его в почве с солевым pH около 4—5.

Наследственная изменчивость физиологических свойств азотобактера и, в частности, его азотфиксации, несомненно, происходит и в природных условиях, что подтверждается некоторыми литературными данными. Красильниковым [7] выделен ряд разновидностей Azotobacter chroococcum и других видов азотобактера, отличающихся от типичных представителей по ряду морфологических и физиологических свойств и обладающих слабой азотфиксацией или даже совершенно лишенных этой способности. Сушкиной [12 и 13] из засоленных почв Валуйской опытной станции выделен азотобактер, отнесенный Красильниковым [7] к самостоятельному виду Azotobacter galophilum Suschkina и отличающийся от Azotobacter chroococcum высокой галофильностью, высоким осмотическим давлением и способностью выделять свой пигмент в субстрат.

Однако с экологической точки зрения азотобактер еще очень слабо изучен как в морфологическом, так и в физиологическом отношении. Это и побудило автора к данным исследованиям.

Экспериментальная часть

Исследования проводились над свежими штаммами азотобактера, выделенными автором из различных почв Сибири. Изучено 23 штамма типичного Azotobacter chroococcum в 12 его морфологических разновид-

ностей; кроме того, использован лабораторный штамм Azotobacter chroococcum № 54.

Штаммы типичного азотобактера по морфологическим признакам отличаются друг от друга лишь некоторыми деталями; их колонии на агаровых средах в общем могут быть охарактеризованы так: в молодом возрасте — прозрачные, жидкие, гладкие; в зрелом возрасте — матовые, умеренно плотной пастообразной консистенции, с ярко выраженной складчатостью, с неограниченным ростом; при старении — в той или иной мере разжижаются и пропитываются черным или коричневым не проникающим в субстрат пигментом. Все штаммы с отклоняющимися от нормы колониями, но сохранившие характерные для Azotobacter chroococcum цитологические признаки (зернистость и капсулы), отнесены к разновидностям этого вида.

Азотфиксирующая способность азотобактера исследовалась в условиях нормальной, кислой и резко щелочной сред. Во всех случаях культура азотобактера выращивалась стерильно в чашках Петри, из которых каждая заливалась 30 мл агаровой среды с 2% сахарозы, но минеральный состав сред был разный. Нормальной средой с pH = 7,2, служила среда Омелянского и Северовой; резкое подщелачивание до pH = 11 достигалось путем добавления к этой среде KOH. Кислая среда с pH около 5,7 имела следующий состав: водопроводной воды 1 л, сернокислого кальция 1 г, сернокислого магния 0,5 г, однокалиевого фосфата 9,078 г. ($^1/_{15}$ моля). В некоторых случаях применялась еще среда с pH = 5,5; она готовилась, как и среда с pH = 5,7, но обычная 2%-ная концентрация агара снижалась до 1%. Посев производился суспензией молодой культуры азотобактера, выращенного в пробирках с агаровой средой. На каждую пластинку вносилось по 1 мл суспензии, полученной путем смывания культуры из одной пробирки 30 мл стерильной водопроводной воды. Засеянные пластинки выдерживались в термостате при 27°.

Для полного развития культуры в зависимости от pH требуюся разные сроки. Предыдущими исследованиями автора [1, 2] установлено, что на нормальных средах для этого достаточно 2—3 суток, при pH = 5,7 — примерно 5—6 суток и при pH = 11 — не менее 12 суток. В данных исследованиях эти сроки для полной гарантии значительно удлинялись; для нормальной среды — до 7, для кислых — до 10 и для щелочной — до 20 суток.

Через указанные сроки проверялась чистота культур, после чего они смывались в тугоплавкие колбы и по методу Кьельдаля анализировались на содержание общего азота. Повторность определений — четырехкратная для культур с нормальной средой и двукратная для культур с кислой и щелочной средами.

Средние данные, за вычетом данных, относящихся к содержанию азота в культуре сразу после посева ее на среды, выражают собой продуктивность фиксации азота азотобактером. Эти данные для штаммов типичного Azotobacter chroococcum приводятся в табл. 1 и для разновидностей этого вида в табл. 2.

Одновременно в этих же таблицах даются краткие сведения о почвах, из которых выделены исследуемые штаммы, а для разновидностей азотобактера, кроме того, указываются важнейшие морфологические особенности их колоний; более подробно такие сведения будут даны в специальных статьях автора, посвященных распространению и морфологии азотобактера.

Табл. 1 показывает, что в нормальной среде на 1 г использованного сахара лабораторный штамм № 54 усвоил азота 9,60 мг и сибирские штаммы типичного Azotobacter chroococcum — от 9,73 до 11,24 мг. Таким образом, максимальная разница между сибирскими штаммами типичного азотобактера по продуктивности их азотфиксации составляет всего 1,5 мг. Эти данные вполне совпадают с приведенными выше данными

Таблица 1

Продуктивность азотфиксации штаммов типичного Azotobacter chroococcum в миллиграммах на 1 г сахарозы

№ культуры	Откуда взят образец почвы	Название почвы	pH почвы, из которой выделена культура	Усвоено азота при pH среды, равном		
				7,28	11,08	5,68
54	Лабораторный штамм		—	9,60	4,52	2,50
176	Амурск. обл., ст. Магдагачи	Подзолистая	6,19	10,47	3,97	2,54
195	Томск. обл., Верхнекетский р-н	„	6,13	10,37	3,29	2,45
36	Томск. область и р-н	Серая лесная	6,56	11,05	4,11	2,56
23	Красноярский край, Даурский р-н	Темносерая лесная	6,57	9,73	4,02	2,57
179	Алтайск. край, г. Змеиногорск	„ „	6,60	10,35	4,17	2,14
3	Красноярск. край. Идринский р-н	Бурая лесная	6,52	9,90	4,26	2,42
45	Томск. обл., Каргасокский р-н	Перегнойно-луговая	5,62	10,73	3,76	2,62
106	Близ Томска, Таганское болото	Торфяно-болотная	5,36	9,75	3,84	3,16
175	Близ Томска, Петровское болото	„	6,76	10,23	4,16	2,67
112	Красноярск. край, Краснотуранский р-н	Темносерая лесная на известняке	7,21	10,05	4,64	2,42
140	Томск. район, с. Некрасово	Луговая на известковом туфе	7,26	10,16	4,76	2,49
102	Томск. р-н, с. Писаревка	То же	7,29	10,08	4,71	2,37
8	Красноярск. край, Шушенский р-н	Выщелоченный чернозем	6,83	10,97	4,19	2,26
84	Около Новосибирска	„ „	6,50	10,12	4,19	2,09
28	Челябинск. обл., Троицкий р-н	„ „	6,80	10,77	4,23	2,54
159	Новосибирск. обл., ст. Убинская	Черноземно-луговая	6,86	10,88	4,80	2,69
26	Читинск. обл., ст. Оловянная	Южный чернозем	6,82	10,61	5,35	2,22
1	Красноярск. край, г. Минусинск	„ „	6,84	11,24	5,07	2,62
207	Красноярск. край, Бейский р-н	Каштановая	6,97	9,95	3,50	2,39
229	Тувинск. авт. обл., г. Кызыл	Серозем	7,06	10,06	4,04	2,50
11	Красноярск. край, Шушенский р-н	Солончак	7,26	11,15	6,58	2,12
16	Алтайск. край, Ключевский р-н	„	7,22	10,45	4,24	2,31
145	Новосибирск. обл., курорт оз. Карачи	Лечебная грязь	7,41	10,59	6,25	2,60

Виноградского, а следовательно, тоже могут служить показателем «нормального» процесса азотфиксации азотобактера.

В резко щелочной и в кислой средах усвоение азота азотобактером сильно снижается, что констатировалось автором [2] и в его прежних исследованиях. Особенно низка азотфиксация штаммов типичного Azotobacter chroococcum на кислой среде, при этом сходство между отдельными штаммами проявляется еще в большей мере, чем на нормальной среде: минимальная продуктивность равняется 2,09 и максимальная — 3,16 мг азота на 1 г сахарозы. Таким образом, ни один из штаммов типичного азотобактера к кислой среде не приспособлен. В этом отношении несколько выделяется штамм № 106, полученный из торфяно-болотной почвы с pH = 5,36, но и у него приспособленность выражена в очень слабой степени.

На резко щелочной среде фиксация азота колеблется в более широких пределах, чем на кислой и нормальной средах, именно от 3,29 до 6,58 мг на 1 г энергетического вещества. Более высокие показатели принадлежат штамму № 145, выделенному из грязи соленого озера, № 11, выделенному из солончака. Можно считать, что у этих штаммов под влиянием засоления выработалась известная приспособленность к щелочной среде. Однако засоление не всегда действует в этом направлении; например,

штамм № 16 тоже из засоленной почвы, но он нисколько не отличается от штаммов из обычных почв.

Таблица 2

Продуктивность азотфиксации у разновидностей Azotobacter chroococcum в миллиграммах на 1 г сахарозы

№ культуры	Откуда взят образец почвы	Название почвы	Консистенция и окраска колоний на агаровых средах	pH почвы, из которой выделена культура	Усвоено азота при pH среды, равном			
					7,28	11,08	5,68	5,49
227	Зап. Саяны, Ойский хребет	Горная, торфянисто-луговая	Клейстерообразные, бесцветные	5,65	8,43	3,64	2,80	—
136_1	Иркутск. обл., Андреевский прииск	Подзолистая	Консистенция густого клейстера, коричнев.	6,19	8,87	2,47	3,99	—
136_2	То же	»	Клейстерообразные, бесцветные	6,19	6,83	2,35	4,90	—
5	Красноярск. край, Курагинский р-н	Светлосерая лесная, оподзолен.	Очень плотные, черные	6,20	9,48	3,44	2,48	—
41	Томск. р-н, с. Межениновка	То же	Пастообразные, мандаринового цвета	5,53	9,33	3,03	8,22	6,02
40	Томск. р-н, с. Яр	Темносерая лесная	Консистенция густого клейстера, коричнев.	5,70	8,94	3,15	1,83	—
35	Томск. обл., Кожевниковский р-н	Луговой солончак	Клейстерообразные, бесцветные	6,02	7,85	3,12	5,08	—
17	Алтайск. край, Ключевский р-н	Южный чернозем	Клейстерообразные, бледнокремовые	6,96	8,62	4,64	7,70	1,84
58	Алтайск. край, Михайловский р-н	Каштановая содово-засоленная	Очень плотные, черные	7,34	8,17	3,53	2,56	—
230	Тува, предгорье хребта Веселого	Светлокаштановая	Клейстерообразные, бесцветные	7,17	8,56	4,62	5,04	—
167_1	Новосибирск. обл., ст. Убинская	Луговой солончак	Консистенция жидкой пасты, коричнев.	7,28	9,51	5,23	1,69	—
167_2	То же	То же	Клейстерообразные, бесцветные	7,28	9,20	7,09	7,00	3,65

Примечание. Знак — поставлен у культур, где азот при pH = 5,49 не определялся в связи со слабым ростом азотобактера.

Табл. 2 показывает, что у разновидностей Azotobacter chroococcum по сравнению с типичными представителями этого вида продуктивность усвоения азота в общем ниже и колеблется в более широких пределах: на нормальной среде — от 6,83 до 9,51 мг, на резко щелочной — от 2,35 до 7,09 мг и на кислой при pH = 5,68 — от 1,83 до 8,22 мг азота на 1 г использованного сахара.

К щелочной среде наиболее приспособлен не пигментирующийся штамм № 167_2, выделенный из лугового солончака Барабы, у которого продуктивность фиксации азота на 1 г сахарозы составляет 7,09 мг и уступает продуктивности на нормальной среде всего на 2,1 мг, в то время как у других штаммов щелочность снижает ее в 2—3 и даже в 3,6 раза (№ 136_1).

По выносливости к кислотности самой замечательной является разновидность № 41, выделенная из светлосерой почвы Томского района и в морфологическом отношении отличающаяся от типичного азотобактера

своей оригинальной окраской, сходной с окраской мякоти мандарина. На нормальной среде азотфиксация у этого штамма составляет 9,33 мг, т. е. мало уступает азотфиксации типичного азотобактера; в кислой среде при pH = 5,68 она снижается всего на 1,1 мг и даже при pH = 5,49, при котором у всех штаммов типичного азотобактера и у большинства его разновидностей развития почти не заметно, этот штамм еще усваивает 6,02 мг азота, т. е. против нормальной среды меньше только на $^1/_3$.

По устойчивости к кислотности к штамму № 41 приближаются бледно-кремовый штамм № 17, выделенный из южного чернозема Алтайского края, и не пигментирующийся штамм № 167_2, выделенный из солончака Барабы. Штамм № 167_2 особенно замечателен тем, что хорошо приспособлен и к кислой и щелочной средам. Значительной устойчивостью к кислотности обладают также такие разновидности как № 136_2 — из подзолистой почвы Иркутской области, № 35 — из темносерой почвы Кожевниковского района Томской области и № 230 — из светлокаштановой почвы Тувы. Обращает на себя внимание то, что, как правило, к кислой среде лучше приспособлены те штаммы, которые утратили характерную для Azotobacter chrococcum коричневую пигментацию, однако это правило не всегда выдерживается (штамм № 227).

Как показывает табл. 2, почвы, содержащие сходные в морфологическом и физиологическом отношении разновидности, относятся к различным типам, отдаленным к тому же по своему географическому положению. Исследованиями автора по вопросу о распространении азотобактера установлено, что эти почвы в виде отдельных пятен располагаются среди почв, в которых находится типичный азотобактер, имеющий почти повсеместное распространение. В связи с этим напрашивается вывод, что разновидности азотобактера сформировались в каждом отдельном случае на месте из штаммов типичного азотобактера и что причины, определившие резкую изменчивость наследственных свойств типичного азотобактера, надо искать не среди обычных эдафических факторов, а прежде всего в специфических особенностях почв, в которых находятся разновидности. Скорее всего, что в этом направлении решающая роль принадлежит каким-то почвенным микроэлементам.

Интересны случаи, когда в одном и том же почвенном образце содержатся по две морфологические и физиологические разновидности азотобактера (табл. 2, № 136_1, 136_2 и 167_1 и 167_2). Этот факт можно объяснить двояко: вероятнее всего, что в данную почву с ее специфическими особенностями занесен один и тот же штамм типичного азотобактера, но в разное время, а поэтому тот азотобактер, который попал в почву позднее, в меньшей мере изменился; но возможно и то, что занесены два штамма, в известной мере различных по своей природе, которые вследствие своих особенностей по-разному реагировали на воздействие одних и тех же факторов.

Выводы

1. В сибирских почвах находится только один вид азотобактера — Azotobacter chroococcum. В различных типах почв, как правило, содержатся типичные штаммы этого вида, отличающиеся друг от друга по морфологическим признакам только некоторыми деталями, но интразонально среди этих почв изредка встречаются участки, в которых можно найти морфологические разновидности Azotobacter chroococcum.

2. На нормальных средах сибирские штаммы типичного азотобактера усваивают на 1 г сахарозы от 9,7 до 11,2 мг азота, что вполне соответствует «нормальной» продуктивности азотфиксации, установленной Виноградским для штаммов азотобактера из почв различных стран. На кислых и резко щелочных средах азотфиксация типичного азотобактера сильно снижается.

3. У разновидностей азотобактера продуктивность фиксации азота колеблется в широких пределах. Некоторые из разновидностей обнаруживают большую выносливость к повышенной кислотности среды и к резкому подщелачиванию субстрата.

4. Так как почвы, содержащие морфологические и физиологические разновидности азотобактера, относятся к различным типам и располагаются в виде отдельных пятен среди почв с типичным азотобактером, то отсюда несомненно, что разновидности имеют местное происхождение и что на их возникновение решающее значение оказали не обычные экологические факторы, а какие-то тонкие специфические особенности почв, в которых они теперь находятся.

Томский государственный
педагогический институт

Получено 4.V.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блинков Г. Н. Влияние реакции среды на интенсивность азотфиксации и рост азотобактера. Микробиология, XVII, 49, 1948.
2. Блинков Г. Н. Рост азотобактера и азотфиксация в условиях кислой и щелочной среды. Микробиология, XX, 230, 1951.
3. Буткевич В. С. и Колесникова Н. А. Об образовании аммиака при фиксации молекулярного азота азотобактером. ДАН СССР, XXXIII, 66, 1941.
4. Виноградский С. Н. Об азотфиксирующих микробах. Микробиология почвы, гл. V, 561, 1952.
5. Костычев С. П., Рыскальчук А. и Швецова О. Химические исследования над связыванием молекулярного азота микробом Azotobacter agile. Тр. отдела с.-х. микробиологии, 1, 91, 1926.
6. Краинский В. Обогащение азотом в связи с жизнедеятельностью аэробных микроорганизмов, ассимилирующих свободный азот. Киев, 1911.
7. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов, 1949.
8. Мишустин Е. Н. и Бахарева З. И. Почвенная кислотность как фактор, определяющий появление в почве неактивного азотобактера. Микробиология, VIII, 1063, 1939.
9. Мишустин Е. Н. и Семенович М. М. Почвенная кислотность как фактор, определяющий появление в почве неактивного азотобактера. Микробиология, VIII, 19, 1939.
10. Омелянский В. Л. Связывание атмосферного азота почвенными микробами. Петроград, 1923.
11. Рубенчик Л. И. и Ройзин М. Б. Влияние связанного азота на азотобактер. Тр. научной конференции по бактериологии и изменчивости микробов в 1936 г., 165, 1936.
12. Сушкина Н. Н. Фиксация азота и биологические особенности азотобактера, выделенного из засоленных почв Нижней Волги. Сообщ. II, Вестн. МГУ, № 10, 195, 1948.
13. Сушкина Н. Н. Современные данные по экологии Azotobacter chroococcum. Микробиология, XXI, 96, 1952.
14. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы, М., Сельхозгиз, 1952.
15. Krzemieniewsky S. Physiologische Untersuchungen über Azotobacter chroococcum. Bull. Acad. sci. de Cracovie, 333, 1908.

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГИИ ПИТАНИЯ OSCILLATORIA SPLENDIDA GREW. И OSCILLATORIA AGARDHII GOM. В СВЯЗИ С ОБРАЗОВАНИЕМ И НАКОПЛЕНИЕМ ЗАПАХОВ И ПРИВКУСОВ ВОДЫ

II. ОПЫТЫ НА ГРУНТАХ*

В. И. Успенская

Полученные нами данные позволили установить не только тот факт, что осциллятории (Os. splendida и Os. agardhii) при своем развитии образуют и накапливают вещества, дающие запах, но и влияние различных условий на этот процесс.

Это последнее обстоятельство позволило перейти к постановке более сложных опытов, приближающихся к природным условиям, а именно к опытам на грунтах.

Для выяснения вопроса, как накапливаются вещества, дающие запах и привкус воды при развитии пленок осцилляторий на грунтах, был поставлен опыт, состоявший из двух серий. Пробы были взяты с замедленного фильтра Рублевской водоносной станции 25. IV в момент его очистки. I серия: грунт взят с поверхности фильтра с биологической пленкой, II серия: песок с глубины 5 см.

Опыт был поставлен в колбах на 250 мл, куда был внесен грунт по 45 г и налита водопроводная вода по 150 мл. Для выяснения вопроса о влиянии бактерий и других микроорганизмов на образование веществ, дающих запах и привкус воды, часть колб была простерилизована. Перед посевом оба грунта были проверены Мессиневой на содержание бактерий и актиномицетов. Последние не были обнаружены. В исходном материале были сделаны некоторые химические определения. В нестерильных культурах pH воды равен 7,6; окисляемость над осадком — 10,4 мг/л O_2, нитратный азот — 4,5 мг/л. Окисляемость воды над песком — 40 мг/л O_2, нитратный азот — 3,0 мг/л. В стерильных культурах pH воды = 7,3. Окисляемость воды над осадком — 105 мг/л O_2, а над песком — 23,84 мг/л O_2. Кроме того, в обоих грунтах было определено исходное органическое вещество и флора и фауна, населяющие их.

Органическое вещество в биологической пленке (с фильтра) — 1,87%.

Органическое вещество в песке — 0,92%.

(Органическое вещество определялось мокрым сжиганием с хромом).

В биологической пленке были обнаружены единичные формы диатомей, бесцветные флагелляты, протококковые водоросли, а также остракоды и личинки хирономид. В песке эти формы попадались еще реже или отсутствовали совсем. Колбы были засеяны гормогониями Os. splendida и поставлены на северное окно. В этом опыте грунт не был затенен, и поэтому осциллятории развивались при полном освещении. Это обстоятельство важно отметить, так как при затенении грунта свет может проникнуть только сверху через толщу воды; при этих условиях осциллятории растут только по поверхности грунта, образуя кожистую пленку. При полном же освещении благодаря способности двигаться нити осцилляторий спускались по стенкам сосуда на дно его и полностью обволакивали грунт, так что под конец последний находился в мешке из пленок осцилляторий.

* Литературу см. сообщ. I, Микробиология, XXII, вып. 5, 1953.

Описание роста Os. splendida на грунтах. В первую очередь можно отметить, что Os. splendida начала раньше развиваться и лучше росла на нестерильных грунтах, при этом рост пленки на песке был несколько хуже. На стерильных грунтах Os. splendida лучше росла на осадке (биологической пленке) и хуже на песке (табл. 1). На вышеупомянутых грунтах, как стерильных, так и нестерильных, рост ее происходил периодически. Сначала пленка осцилляторий сильно разрасталась на всей поверхности грунта и имела интенсивно темнозеленый цвет. Затем рост ее временно прекращался и пленка приобретала желтоватый оттенок. В это время в воде появлялась взвесь из гормогониев и землистый запах, равный 2—3 баллам, который удерживался 2—3 дня, постепенно ослабевая. Через несколько дней из гормогониев вырастала новая пленка, которая сильно разрасталась не только на поверхности грунта, но и проникала в глубь его.

Рост на нестерильных грунтах шел лучше, потому что там, наряду с отмиранием нитей осцилляторий и с распадом их, происходила минерализация, которая обеспечивала дальнейший рост осцилляторий. В стерильных грунтах пленка осцилляторий росла только за счет имеющегося растворенного органического вещества, которое осциллятории, очевидно, могут использовать только до определенного предела (табл. 1). Поэтому в этих культурах пленки стали выглядеть хуже, приобрели грязножелтый цвет и в них чаще стал появляться запах. Рост на стерильном песке прекратился через три с половиной месяца, а на осадке (биологическая пленка) — через четыре с половиной месяца. Землистый запах за этот срок на стерильном песке появлялся 18 раз, а на осадке — 16 раз. На нестерильных грунтах пленки осцилляторий до конца опыта продолжали расти и хорошо выглядели. Культуры на нестерильных илах могут жить длительно (имеются годичные наблюдения), при этом рост их то вспыхивает, то затухает. В некоторых культурах под конец года, когда, очевидно, из грунта питательные вещества были израсходованы, пленка освобождала грунт и всплывала наверх. Вода в это время имела резкий землистый запах. Подобные явления наблюдаются и в природе, когда в конце лета пленки осцилляторий отрываются от грунта и плавают по воде.

Таблица 1

Развитие Os. splendida и появление запаха на грунтах

(Начало опыта 28.IV, конец—28.X)

Проба	Частота появления запаха	Запах в баллах	Вес сухого вещества в г	Окисляемость в мг/л O_2		Нитратный азот начальный в мг/л
				начальная	конечная	
Биологическая пленка	14	2—3	0,2720 0,2500	10,4	32,8 32,16	4,5
Биологическая пленка (стерильная)	16	2—3	0,1526 0,1656	105	85,6 79,0	
Песок под пленкой с глубины 5 см	17	2—3	0,1956 0,1780 0,1374	4,0	16,8 15,97 20,56	3
Песок под пленкой с глубины 5 см (стерильный)	18	1—2	0,1360	23,84	23,59	
Контроль: биологическая пленка без засева	4	Слабый затхлый		10,4	25,2	4,5
Контроль: песок с глубины 5 см без засева	4	Слабый затхлый		4,0	15,4	3,0

Все культуры на илах периодически просматривались под микроскопом для учета развития других организмов. Было установлено, что в культурах с развившейся пленкой Os. splendida (песок и биологическая пленка) через два с половиной месяца в грунте встречались единичные формы Scenedesmus sp., Navicula sp. и Nitzschia sp. В обоих же контрольных сосудах образовалась плотная зеленая пленка, которая главным образом состояла из Anabaena flosaquae и Tribonema bombycina, Scenedesmus и Navicula sp. встречались единично. В контрольных культурах во время опыта запах появлялся четыре раза. Запах был затхлый, гнилостный, равный 1—2 баллам и держался длительно. Привкус был незначительный.

Таким образом, проведенные наблюдения позволяют заключить, что при росте Os. splendida на грунтах она интенсивно разрастается и постепенно вытесняет другие водоросли, которые в ее отсутствие хорошо развиваются на этих грунтах.

Кроме опытов с Os. splendida, на тех же грунтах были одновременно поставлены опыты с Os. agardhii. Разница заключалась лишь в том, что гормогонии Os. agardhii были посеяны только на нестерильных грунтах. Остальные условия опыта были те же.

Os. agardhii в начале опыта одинаково хорошо росла на обоих грунтах. Поведение ее на грунтах было такое же, как у Os. splendida, т. е. рост происходил периодически. При разрастании нити Os. agardhii проникали на дно сосуда. В обеих этих культурах запах прелых овощей в первый раз наблюдался через полтора месяца и в течение следующего месяца возникал часто: в культуре на песке 4 раза (2—3 балла), а на осадке 6 раз (1—2 балла). По истечении двух с половиной месяцев от начала опыта запах в этих культурах больше не возникал. Необходимо отметить, что в это время рост пленки на грунтах изменился, а именно пленка стала более интенсивно расти и приобрела зеленый цвет. В культурах при развитии пленки Os. agardhii периодически проверялся рост других водорослей. Так, в течение двух первых месяцев при проверке под микроскопом всегда преобладали нити Os. agardhii и в виде примеси встречались протококковые. Scenedesmus opoliensis и quadricauda встречались в большом количестве, а Pediastrum sp. редко. Под конец же опыта в этих культурах стала развиваться Anabaena variabillis, которая так сильно разрослась, что при окончании опыта была в равном количестве с Os. agardhii. Учитывая это обстоятельство, я не даю прироста Os. agardhii в этом опыте.

Что касается запаха и привкуса воды в описанном опыте, то во всех культурах с Os. splendida осторожно слитая с грунта вода имела слабый запах или же не имела его совсем. Запах и привкус явно ощущались только после подогревания воды. Грунты же, как песок, так и биологическая пленка, приобрели сильный землистый запах, равный 4—5 баллам и выше. Вода при взбалтывании ее с грунтом всегда приобретала сильный запах и привкус, которые удерживались после разбавления и фильтрования. Необходимо отметить, что при высушивании грунты долго сохраняли землистый запах.

Опыт на грунтах Учинского водохранилища

Второй опыт был поставлен на естественных грунтах (песок и ил), взятых с Учинского водохранилища 3. VII 1951 г. Опыт был поставлен на обоих грунтах по следующей схеме:

2 банки с песком без засева

2 банки с песком с Os. splendida.

По этой же схеме был поставлен опыт и с илом. Опыт ставился в банках, в которые был внесен грунт (песок 160—135 г, ил 44—60 г). Сверху грунт был залит водой (из Учинского водохранилища) в количестве

200 мл. В исходном материале были сделаны некоторые химические определения. Вода над илом имела pH = 7,3, $Fe^{...}$ — 1,0—1,2 мг/л, NH_4 — следы, NH_4 — следы, N_2O_5 — 0,25 мг/л; окисляемость — 10,7 мг/л O_2. Органического вещества в илу — 5,50%.

Вода над песком имела pH = 7,5; $Fe^{...}$ — 0,4 мг/л; NH_4 — O, N_2O_3 — следы, N_2O_5 — 0,3 мг/л; окисляемость — 11,84 мг/л O_2. Органическое вещество в песке — 0,54%. Актиномицеты не были найдены.

Что касается других микроорганизмов, главным образом водорослей, то в илу были найдены Ulothrix variabilis Kütz и Ulothrix subtilissima в виде отдельных нитей и обрывков. В песке была найдена более богатая и разнообразная флора: 1. Os. brevis (Kütz) Gom. (много); 2) единичные короткие нити Os. limosa Ag.; 3) Oedogonium sp.; 4) Scenedesmus quadricauda Turp; (Breb); 5) Pediastrum Boryanum Turp Mengh. и 6) Nitzschia sigmoidea Ehr. W. Sm. и т. д.

Банки были засеяны гормогониями Os. splendida (1 мл взвеси) и поставлены на северное окно, в два ряда. Чтобы более приблизиться к природным условиям, в этом опыте грунт был затенен черной бумагой

Описание роста Os. splendida. В этом опыте Os. splendida росла большей частью по поверхности грунта, образуя отдельные зеленые островки или же затягивая всю поверхность грунта зеленой пленкой. Кроме того, часть нитей осциллятории поднималась по стенкам банок, образуя кайму на границе с водой; но в глубь ила по стенкам банки нити не спускались. Проверка роста Os. splendida и появление землистого запаха производились два раза в неделю. Уже через две недели можно было отметить, что зеленый налет на обоих грунтах развивался лучше в банках, стоящих в первом ряду ближе к свету, и хуже в банках во втором ряду, что особенно резко проявилось в серии опытов с песком, на котором пленка Os. splendida росла слабо. Наиболее интенсивное развитие на обоих грунтах наблюдалось первые полтора — два месяца.

Кроме проверки запаха, через каждые три недели производился просмотр организмов, образующих пленку на грунтах. Первый просмотр, сделанный через три недели, показал, что в контрольных банках с песком зеленый налет состоял из тех же форм, только численность их стала значительно больше. В остальных банках, засеянных гормогониями Os. splendida, пленка главным образом состояла из ее нитей, но, кроме того, в ней также встречались отдельные нити Os. brevis и единичные формы Gyrosigma sp., Navicula sp. и Nitzschia sigmoidea. Налет на стенке банки состоял из Chlamydomonos sp. в пальмеллевидном состоянии и Scenedesmus sp. На илу в обеих контрольных банках пленки не было. На стенках образовался налет, состоящий из нитей Ulothrix и нитей Os. brevis. Во всех остальных банках с Os. splendida пленка состояла из ее нитей, в которых изредка встречались нити Ulothrix variabilis, Gyrosigma kützingii и Navicula sp.

В конце опыта на обоих грунтах Os. splendida пленка состояла главным образом из ее нитей, среди которых единично встречалась Gyrosigma sp. и Navicula sp. В контроле же на обоих грунтах зеленая пленка исчезла, а на поверхности воды появился белый налет из плесени. Прирост Os. splendida на этих грунтах за четыре месяца дан в табл. 2.

Как видно из этой таблицы, Os. splendida лучше росла на илу, чем на песке; при этом рост ее в первых банках, стоявших ближе к свету, был лучше, чем во втором ряду. Особенно резко это проявилось в культурах на песке, где пленка Os. splendida выросла так мало, что в конце опыта нельзя было ее собрать для взвешивания.

Что касается появления землистого запаха во время роста Os. splendida на грунтах, то, как видно из табл. 2, землистый запах появлялся более часто при росте на песке, чем на илу. При этом в культурах на песке наиболее частое появление землистого запаха наблюдалось после трех месяцев роста осциллятории. В течение этого времени запах появ-

Таблица 2

Рост Os. splendida на грунтах Учинского водохранилища

(Начало опыта 3.VII, конец 3.X)

Культуры	Частота появления запаха	Запах в баллах	Вес сухого вещества в г	Окисляемость в мг/л O_2
Ил, контроль				12,82
	3	1—2		13,5
Ил+Os. splendida	4	1—2	0,0300	14,62
			0,0276	13,50
Песок, контроль	5	2	—	13,2
Песок+Os. splendida	6	2	0,0146	13,82

лялся четыре раза; в этот период он был наиболее ощутим и держался довольно длительно. Как было указано выше, наиболее интенсивное развитие пленки наблюдалось в течение полутора — двух месяцев. Затем из-за недостатка питания пленка перестала расти и приобрела желтый цвет: очевидно, в это время у осцилляторий в связи с резким изменением обмена происходит частичное отмирание нитей, что влечет за собой наиболее частое появление запаха. Пленка в это время приобрела грязно-желтый цвет, покрылась тонкой слизью и находилась как бы в анабиотическом состоянии.

В контроле (песок) запах появлялся пять раз и под конец держался очень длительно. Сначала запах был болотный, а под конец гнилостный. Вода, осторожно слитая с песка, имела запах плесени, у песка запах отсутствовал. Привкус был незначительный. Вода, слитая с грунта, имела слабый затхлоземлистый запах (1 балл) и незначительный привкус. Песок в обеих культурах имеет более значительный запах (2—3 балла).

Что касается появления запаха и привкуса воды при развитии Os. splendida на илу, то здесь необходимо отметить, что благодаря содержанию большего количества органического вещества пленка имела возможность расти дольше и до конца опыта сохраняла зеленый цвет. Запах во всех культурах появлялся ранее, чем на песке. В культурах на илу запах стал появляться через полтора — два месяца и затем возникал периодически до самого конца опыта. В конце опыта вода, слитая с ила (контроль), не имела запаха и привкуса, при подогревании вода приобретала слабый болотный запах и привкус. Ил имел затхлый болотный запах. Во всех перечисленных культурах ил и песок всегда имели более сильный запах, чем вода. Как правило, вода после взбалтывания с грунтами приобретала более интенсивный запах и привкус. Необходимо отметить, что в этом опыте запах грунтов был менее интенсивным, чем в предыдущем опыте, что, очевидно, связано с небольшим приростом пленки.

Из всего вышеизложенного видно, что как в опытах на естественных грунтах, так и в опытах с растворенным органическим веществом и минеральных питательных растворах Os. splendida и Os. agardhii при длительном культивировании периодически выделяют в воду вещества, дающие специфические запахи. Частота появления запаха и интенсивность его обычно усиливаются к концу опыта, когда в культурах наступают наиболее резкие изменения режима питания и других факторов, приводящих культуру к гибели. В это время пленка приобретает грязно-желтый цвет, несколько уплотняется и покрывается слизью. Все эти явления более резко проявляются на минеральных питательных растворах.

При микроскопическом исследовании пленки в описанном состоянии всегда обнаруживается много отмерших нитей и много гормогониев.

Остальные нити имеют жизненный вид, но только мало подвижны. Если такой культуре в дальнейшем не будут созданы благоприятные условия для ее развития, то она будет медленно погибать, а продукты распада и запах, выделяющийся при ее гибели, будут скапливаться в воде и в грунте. Несомненно, подобные явления происходят и в природе. К началу осеннего периода в наиболее загрязненных районах Москвы-реки, как-то: на дне Старицы, в реке Сомынке, в Москве-реке выше Староречья и около деревни Глухово, наблюдалось на поверхности ила мощное развитие компактных пленок. В местах развития этих пленок ил и вода обладали характерным землистым запахом. Развитие на поверхности грунтов мощных пленок может явиться важным фактором загрязнения воды, так как специфические запахи, образуемые осцилляториями при своем развитии, не только выделяются в воду, но и сорбируются грунтом. По нашим наблюдениям, запах легко вымывается водой, при этом вода приобретает не только запах, но и привкус, который делает ее непригодной к употреблению.

Выводы

Опыты на грунтах показали, что рост Os. splendida идет лучше на грунтах с большим содержанием органического вещества и хуже при меньшем содержании его.

Запах и привкус, образующиеся во время роста Os. splendida и Os. agardhii на грунтах, под конец опыта скапливаются в грунте и оттуда могут вымываться водой. При этом вода приобретает не только запах, но и привкус, который делает ее непригодной к употреблению.

Чтобы предотвратить появление землистого запаха в воде, необходимо не допускать загрязнений воды органическими веществами в количестве, позволяющем развитие мощных пленок осцилляторий. Наличие 1% органического вещества в грунте является максимально допустимым. Особое внимание должно быть обращено на снижение азота в воде и в грунтах.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова
Биолого-почвенный
научно-исследовательский институт

Получено 2.XII.1952 г.

К ВОПРОСУ ОБ ОПРЕДЕЛЕНИИ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ СПОСОБНОСТИ ПОЧВЫ

Г. С. Хренова

Наряду с общепринятыми методами борьбы с патогенными для растений микроорганизмами имеет большое будущее еще не получивший широкого применения в сельскохозяйственной практике метод использования антагонистических взаимоотношений между возбудителями заболеваний и сапрофитной микрофлорой почвы или так называемыми микробами-антагонистами.

Наиболее перспективным способом использования последних является создание благоприятных условий для их развития в самой почве путем различных агротехнических приемов.

При разработке данного метода перед исследователями неизбежно встает вопрос о методе определения активности антагонистов.

Поведение микроорганизмов в чистой культуре на искусственной среде, как известно, резко отличается от поведения их при развитии в естественной для них обстановке.

Это положение безусловно относится и к взаимоотношениям между возбудителями заболеваний высших растений и их антагонистами. Изучая эти отношения на искусственных питательных средах, в отрыве от почвы со всем ее комплексом микрофлоры и от растения-хозяина, мы, конечно, не получим полной картины, отражающей происходящие в почве процессы, обуславливающие гибель или задержку развития патогенных микроорганизмов.

Учитывая все вышесказанное, мы поставили перед собой задачу выработать метод определения активности антагонистов, по возможности не вырывая их из естественных условий существования.

Этот метод по существу должен был бы свестись к определению антагонистической способности почвы как целого комплекса, включающего с себя ее физико-химические свойства и биологическую деятельность микрофлоры.

Установлено, что внесение в стерильную почву даже следов нестерилизованной почвы резко снижает поражаемость выращиваемой на ней пшеницы грибом Helminthosporium sativum.

Этот принцип внесения различных количеств нестерильной почвы в стерильную мы и положили в основу разработанного нами метода определения антагонистической способности почвы.

Метод этот является своеобразным видоизменением метода титрования, широко применяемого в бактериологической практике. Антагонистическая способность почвы тем выше, чем меньше ее требуется внести одновременно с инфекцией в стерильную почву для снижения поражаемости всходов.

Определение проводится следующим образом: почву, взятую с участка, где ведется исследование, в количестве, необходимом для набивки 45 плошек, стерилизуют в автоклаве в течение двух часов под давлением 1,5 атм. Полученной стерильной почвой набивают 10 плошек, служащих в дальнейшем контролем; 25 плошек набивают стерильной почвой с

добавлением в каждые пять из них исследуемой нестерильной почвы в следующих количествах: 100, 50, 25, 20 и 10 г на каждые 100 г стерильной почвы и, наконец, остальные плошки набивают целиком исследуемой нестерильной почвой (второй контроль).

Через 6—7 дней, в течение которых в плошках поддерживают влажность почвы, равную 60% ее полной влагоемкости, вносят инфекцию в виде культуры патогенного гриба на зерне (на 200 г почвы 5—10 г содержимого колбы с культурой) и возможно тщательнее перемешивают с почвой.

В качестве контроля без инфекции оставляют 5 плошек, набитых одной стерильной почвой, и 5 — одной исследуемой почвой, внеся в каждую по 5—10 г стерильного зерна (10 г пшеницы, 5 г ячменя и 30 мл воды помещаются в колбы емкостью 100 мл и стерилизуются в автоклаве в течение 15 минут под давлением в 0,5 атм.).

Через 6—7 дней после внесения инфекции высеваются семена растения, поражаемого данным патогенным грибом. Семена перед посевом протравливают в течение полутора минут раствором НИУИФ-1 (1,3%) в разведении 1 : 400.

После появления всходов проводят каждые 2—3 дня подсчеты их. При этом погибшие всходы, после обработки их в течение 3 минут 0,5%-ным раствором $KMnO_4$ помещают в стерильные чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную стерильной водой, и через 7—10 дней микроскопируют с тем, чтобы определить причину их гибели. Наличие мицелия или конидий указывает на поражение всходов тем или другим грибом в зависимости от внесенной в почву инфекции.

Опыт продолжают в течение месяца, после чего производят окончательный подсчет растений, погибших в результате поражения внесенным в почву патогенным организмом.

Ряд проведенных нами опытов с различными почвами показал, что данный метод вполне применим для определения антагонистической способности почвы.

Таблица

Влияние различных количеств нестерильной почвы на снижение пораженности всходов клевера внесенной инфекцией Fusarium solani

Условия опыта	Гибель всходов клевера в %			
	№ опытов			
	1	2	3	4
Стерильная почва + инфекция	90	60	64	88
Нестерильная почва + инфекция	40	29	31	—
Стерильная почва + инфекция + нестерильная, взятая в соотношении: 1 : 8	58	34	—	64
1 : 1	66	36	—	64
2 : 1	—	—	58	—
4 : 1	—	—	62	66

Из таблицы мы прежде всего видим, что указанный метод позволяет уловить разницу в антагонистической способности почв. Так, например, нестерильная почва из опыта первого снижает поражаемость клевера Fusarium solani на 50%, а из второго — всего лишь на 31%. Но, сравнивая поражаемость растений в стерильной и нестерильной почве, мы не всегда можем быть уверены в том, что причиной снижения пораженности в нестерильной почве будут присутствующие в ней микробы-антагонисты, а не другие какие-либо факторы. Добавляя же незначительные количе-

ства нестерильной почвы к стерильной и получая в результате снижение пораженности, мы уже с большей уверенностью можем отнести его за счет деятельности микроорганизмов, в том числе и микробов-антагонистов.

Выводы

Описанный выше метод позволяет проследить за влиянием тех или иных агротехнических мероприятий на антагонистическую способность почвы, т. е. разрешает до некоторой степени судить о том, насколько созданные в почве условия благоприятствуют развитию в ней микробов-антагонистов против фитопатогенных грибов или бактерий.

Уральский филиал
Академии наук СССР
Институт биологии

Получено 10.I.1953 г.

ДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИЦИДНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА СПОРЫ ГРИБОВ

Ю. П. Нюкша

Исследованиями в области изучения биологического действия ультрафиолетовой радиации установлено, что для микроорганизмов наиболее губительным является излучение длиной волны 2 537 Å. В литературе описано много примеров, когда различные виды болезнетворных бактерий под воздействием ультрафиолетовых лучей в 2 500—2 600 Å погибали в течение нескольких минут и даже секунд (Нейштадт и др. [7]).

В настоящее время ультрафиолетовая радиация широко используется в медицинской и гигиенической практике для дезинфекции воздуха и помещений.

Значительно меньше известно о фунгицидном действии ультрафиолетовых лучей и о возможности их использования в борьбе с зараженностью воздуха спорами грибов.

Данциг [5] указывает, что в сравнении с бактериями споры грибов отличаются большей устойчивостью к бактерицидному облучению. Многие авторы отмечают, что фунгицидный эффект при облучении зависит не только от длины волны, но и от ряда дополнительных внешних факторов, а также причин, связанных с химической структурой клеток гриба (Граевский [3]; Димонд и Дугар, Dimond a. Duggar [8]). Интересные результаты облучения плесневых грибов при различных температурных условиях сообщаются в работах Головкина [1, 2]. Автором установлено, что чувствительность грибов к ультрафиолетовым лучам выше при низких температурах и в период образования конидиеносцев. Отмечается также кумулятивное действие ультрафиолетовых лучей и ряд других особенностей. Данилов [4] считает, что для спор грибов различаются три зоны действия ультрафиолетовых лучей: зона стимулирующего действия (0,12—0,80 УФК), зона неполного стимулирующего действия (1,20—31,5 УФК) и зона полного стерилизующего действия (выше 31,5 УФК).

Фультон и Кобленц (Fulton a. Coblentz [9]) приводят данные о неодинаковой устойчивости различных видов грибов, которые подвергались облучению 110-вольтовой кварцевой лампой. Холлендер и Эммонс (Holländer a. Emmons [10]) нашли, что при 53-минутном облучении погибает 83,4% спор Trichophyton mentagrophytes. К сожалению, результаты опытов, описанных различными исследователями, не поддаются сравнению, так как в них степень воздействия ультрафиолетовых лучей на микроорганизмы обычно ставится в зависимость только от времени облучения, а других данных, характеризующих источник ультрафиолетовой радиации, не приводится.

В проведенной нами экспериментальной работе проверялось действие ультрафиолетовых лучей на споры грибов, разрушающих книги, с целью определить возможность использования бактерицидных ламп для очистки воздуха библиотечных помещений от книгоразрушающих грибов. Непосредственной задачей на данном этапе работы было определение изменения процента убитых спор грибов в зависимости от интенсивности бактерицидного излучения.

В качестве источника лучистой энергии в опытах использовалась бактерицидная лампа ГОИ, главная часть излучения которой приходится на резонансную линию ртути с длиной волны 2537 Å, при напряжении на лампе 50 в и силе тока 0,3 а.

Облучению подвергались споры грибов, находящиеся на поверхности твердой питательной среды в чашках Петри. Для разливок служила агаровая среда, содержащая четырехпроцентное сусло и 1% пептона. Заражение агаровых пластинок производилось «естественным путем» из воздуха. Влияние бактерицидного облучения на споры грибов определялось

путем подсчета колоний после проращивания спор при температуре 26—28°.

В работе применялась следующая методика опытов. Перед облучением чашки Петри со стерильной средой открывались на 30—60 минут для заражения спорами, оседающими из воздуха. Затем 16—20 чашек подвергались одновременному облучению. При этом чашки располагались относительно бактерицидной лампы ступенчато в четыре ряда таким образом, что лучистый поток падал на все чашки сверху. Расстояние рядов чашек от лампы соответствовало 26, 36, 49, 64 см. Время облучения изменялось в пределах от трех минут до двух часов.

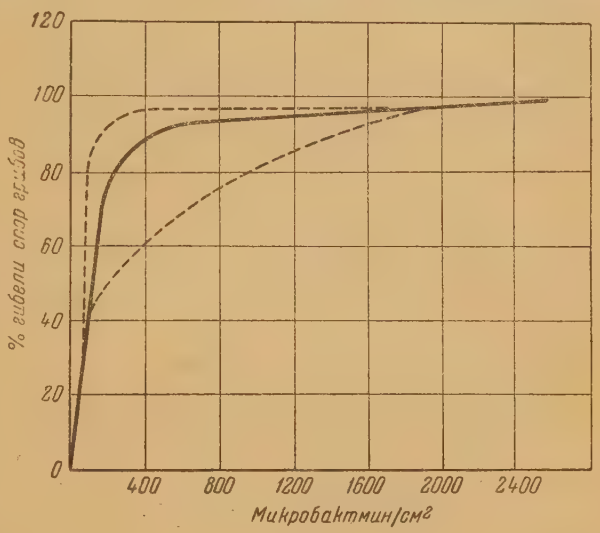


Рис. 1

Бактерицидная облученность для каждой чашки устанавливалась при помощи бактметра — прибора, сконструированного Д. Н. Лазаревым и П. П. Захаровым [1]. Бактметр позволяет измерить только бактерицидную облученность длиной волны 2 537 Å, единицами измерения которой приняты микробакты/см². Учитывая время облучения, можно приближенно определить количество бактерицидного облучения, выражающееся в микробактмин/см².

Результаты опытов вычислялись для каждой чашки в процентах от исходного количества колоний, которые выросли на контрольных чашках, не подвергавшихся облучению. Контрольными считались пластинки агара, зараженные из воздуха, так же как подопытные, и также дополнительно открытые на время облучения, но находящиеся вне сферы действия лампы.

По контрольным чашкам было установлено, что в воздухе содержались споры следующих видов грибов: Aspergillus versicolor Tirab., Asp. flavus Link., Asp. orysae (Alb.) Cohn., Penicllium roqueforti Thom., Penic. tardum Thom., Penic. puberulum Bainier, Penic. meleagrinum Biourg., Penic. szaferi Zaleski, Penic. rubrum Stoll, Spicaria elegans Corda, Rhizopus nigricans Ehrenb., Mucor plumbeus Bonord., Torula conglutinata Corda, Sporotrichum bombycinum Corda, Sporotrichum grisellum Sacc., Stemphylium macrosporoideum (Berk.) и некоторых других. При подсчете колоний на облученных чашках обычно обнаруживалось, что вырастали только колонии Penic. meleagrinum, Penic. puberulum, Penic. roqueforti, Penic. tardum, в то время как колонии других видов грибов почти всегда отсутствовали. Повидимому, указанные виды рода Penicillium более устойчивы к ультрафиолетовому облучению. Практический интерес представляло получение данных о наиболее полной очистке воздуха от спор всех грибов, поэтому в конечном итоге видовые различия грибов учтены не были.

На основании 80 групповых опытов оказалось возможным установить связь между количеством бактерицидного облучения, приходящегося на 1 см² поверхности чашки, и процентом убитых спор грибов. Графически изображение этой зависимости приводится на рис. 1. Кривая, представ-

[1] Измерения проводились при содействии Д. Н. Лазарева.

ленная сплошной линией, выражает собой зависимость между этими величинами.

Согласно кривой, удовлетворительные результаты получаются при количестве бактерицидного облучения в пределах 150—200 микробактмин/см², когда погибает 70—80% спор. При 600 и выше микробактмин/см² оказываются убитыми около 95% спор. С увеличением количества бактерицидного облучения процент гибели спор приближается к 100 и кривая идет почти параллельно горизонтальной оси.

Необходимо отметить, что в том случае, если бактерицидному облучению подвергать не предварительно зараженные чашки, а споры, постепенно оседающие из воздуха на стерильный агар, то можно наблюдать опыты, в которых маленькие и большие дозы облучения дают одинаковую эффективность. Это объясняется постоянным заражением пластинок агара во время облучения все новыми порциями спор и определенной

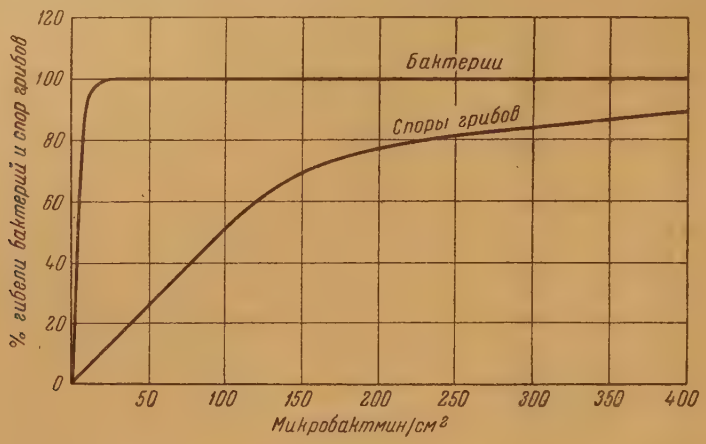


Рис. 2

зависимостью между скоростью их оседания и количеством бактерицидного облучения. При более длительном облучении фунгицидный эффект обычно приближается к 100% за счет общего снижения количества живых спор, содержащихся во всем объеме воздуха. В опытах с предварительным заражением чашек, данные которых приводятся на рис. 1, удавалось получить более закономерные результаты, несмотря на то, что при этом также играло роль не только количество бактерицидного облучения, но и количество спор, оседающих на агар из воздуха в момент облучения.

При постановке опытов с несколькими видами грибов и без учета дополнительных факторов, обуславливающих фунгицидную эффективность ультрафиолетовых лучей, необходимо обозначить не только зависимость, выраженную кривой, но и ту зону, на которую падает наибольшее количество точек. Эта зона обозначена пунктирными линиями по обе стороны от кривой и может быть охарактеризована следующим образом: при 100—200 микробактмин/см² погибает в отдельных случаях от 40 до 90% спор; при 200—600 микробактмин/см² оказываются убитыми от 50 до 95% спор; в пределах 600—1000 микробактмин/см² погибает от 70 до 100% спор и выше 1000 микробактмин/см² гибнет 80—100% спор грибов.

Полученные результаты интересно сравнить с данными о действии бактерицидного облучения на бактерии. На рис. 2 приводятся две кривые; первая кривая (слева) показывает зависимость между количеством бактерицидного облучения и процентом гибели бактерий, а вторая кривая выражает ту же зависимость для спор грибов. Кривая для бактерий приводится из книги Лазарева [6], где данные заимствованы у Лекиша (Lukiesh, [11]), и выражает собой зависимость, характерную для Bact.

coli. Одновременно обозначена кривая, полученная на основании наших опытов для спор грибов, в совместимом с первой кривой масштабе. Сравнивая ход кривых, следует отметить, что выживаемость спор грибов при одинаковом количестве бактерицидного облучения значительно выше, чем бактерий. Если 50 микробактмин/см² обеспечивают полную стерильность в отношении бактерий, то для спор грибов при этом количестве облучения едва удается достичь 25%-ной эффективности. Количество бактерицидного облучения, убивающее споры грибов, согласно графику, в отдельных случаях колеблется: иногда оно превышает бактерицидную эффективность лампы в 25 раз, в других случаях достигает 50 раз. В большинстве опытов гибель спор грибов отмечалась при количестве бактерицидного облучения, в 40 раз превышающем дозировку, необходимую для получения подобных же результатов с неспоровыми формами бактерий.

Выводы

1. При облучении воздуха бактерицидной лампой ГОИ удается снизить его зараженность спорами грибов, разрушающих книги.
2. Удовлетворительные результаты (гибель 70—80% спор грибов) достигаются при количестве бактерицидного облучения 150—200 микробактмин/см².
3. Споры грибов отличаются устойчивостью по отношению к бактерицидному облучению и в сравнении с неспоровыми бактериями требуют в 40 раз большего количества облучения для достижения равной эффективности.
4. Зона наиболее активного нарастания фунгицидного действия облучения находится в пределах от 100 до 1500 микробактмин/см².

Государственная Публичная библиотека
им. М. Е. Салтыкова-Щедрина
Ленинград

Получено 20. IV 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Головкин Н. Действие ультрафиолетовых лучей на развитие плесеней. Холодильная техника, № 2, 36, 1948.
2. Головкин Н. Влияние ультрафиолетовых лучей на плесневые грибы. Холодильная техника, № 4, 67, 1948.
3. Граевский Э. Я. Действие ультрафиолетовых лучей при температуре жидкого воздуха и при комнатной температуре на споры Phycomyces nitens. ДАН, СССР, 53, 849, 1946.
4. Данилов М. М. Влияние ультрафиолетовых лучей на биологию спор плесеней. Гигиена и санитария, № 2, 50, 1950.
5. Данциг Н. М. Бактерицидные свойства новых источников ультрафиолетовой радиации — увиолевортутных ламп низкого давления. Гигиена и санитария, № 7, 15, 1948.
6. Лазарев Д. Н. Ультрафиолетовая радиация. Госэнергоиздат, Л.—М., 1950.
7. Нейштадт Л. Э., Ратнер В. С., Саламандра Э. Г. О применении коротковолнового ультрафиолетового излучения для обеззараживания воздуха в помещении. Инф.-метод. материалы центр. н.-и. санит. ин-та им. Эрисмана. М., № 1, 11, 1951.
8. Dimond A. a. Duggar B. M. Some lethal effects of ultraviolet radiation on fungus spores. Proc. Nat. Acad. Sci., 27, 459, 1941.
9. Fulton H. B. a. Coblentz W. W. The fungicidal action of ultraviolet radiation. J. Agric. Res., XXXVIII, 159, 1929.
10. Hollaender A. a. Emmons C. W. The action of ultraviolet radiation on dermatophytes I. The fungicidal effect of monochromatic ultraviolet radiatin on the spores of Trichophytion mentagrophytes. J. Cellular comp. Physiol., 13, 391, 1939.
11. Lukiesh M., Applications of germicidal erythemal and infrared energy. New York, 1946.

О ВЫХОДЕ СПИРТА ПРИ ДРОЖЖЕВОМ БРОЖЕНИИ

II. ЗНАЧЕНИЕ РАСЫ И УСЛОВИЙ ВОСПИТАНИЯ ДРОЖЖЕЙ ДЛЯ СПИРТОВОГО БРОЖЕНИЯ

Е. К. Кардо-Сысоева и В. А. Утенкова-Ранцан

Ранее нами было показано [1], что при производственном сбраживании древесных гидролизатов фактический выход спирта не превышает 82—89% от теоретического. Между тем выходы спирта на заводах, перерабатывающих пищевое сырье, достигают, как известно, 92—95% и держатся на более постоянном уровне. Установленный таким образом дефицит спирта в гидролизном производстве в промышленных масштабах образует значительные потери, причины которых оставались неизвестными. Нами уже была отмечена большая пластичность заводских гидролизных дрожжей, спиртообразовательная способность которых меняется в зависимости от условий непрерывного брожения в специфической среде. На спиртовых пищевых заводах, напротив, брожение ведется периодическим методом и дрожжи не подвергаются такой адаптации и перевоспитанию.

В настоящем сообщении рассматривается влияние расы дрожжей и условий их подготовки на выход спирта.

Следя за накоплением спирта и расходом РВ (редуцирующих веществ) при сбраживании нейтрализованного гидролизата древесины, мы обнаружили, что чистые культуры дрожжей, воспитанных на солодовом сусле, оставляют в бражке значительно больше РВ (величина отброда), чем дрожжи с гидролизного производства, хотя и накапливают почти то же количество спирта (табл. 1).

Таблица 1

Динамика сбраживания гидролизата заводской и чистой культурой дрожжей

Часы от начала брожения	Заводские дрожжи		Чистая культура раса XII	
	РВ в %	спирт в об. %	РВ в %	спирт в об.%
4	0,91	1,02	1,40	0,86
8	0,70	1,18	0,88	1,16
12	0,66	1,18	0,85	1,19
16	0,64	1,18	0,84	1,20
24	0,64	1,21	0,83	1,20

Наряду с этим нам уже известна способность заводских дрожжей к потреблению редуцирующих несахаров в гидролизном сусле, на основании чего общепринятый метод определения сбраживаемого сахара (по разности РВ до и после брожения) был заменен новым глюкозным методом [1]. Сопоставление концентраций сбраживаемого сахара, найденных по старому и новому методу при брожении заводской и чистой культур дрожжей, объяснило причину найденных у них различий в глубине отброда: дрожжи, воспитанные на солодовом сусле и впервые внесенные в древесную среду, расходуют при брожении только истинные гексозы, не затрагивая редуцирующих несахаров (табл. 2).

Таблица 2

Сбраживание гидролизата различными культурами дрожжей

Культура дрожжей	Содержание в бражке в %		Метод определения сбраживаемого сахара	Найдено сбраживаемого сахара в %	Выход спирта в % от теоретич. по найденному сахару
	РВ	спирта			
Заводская с гидролизного производства	0,61	1,44	Глюкозный метод . .	2,55	87,7
			По разности РВ . .	2,77	80,4
Чистая культура раса XII (из ВНИИСП) *	0,83	1,44	Глюкозный метод . .	2,54	88,0
			По разности РВ . .	2,55	87,7

* Всес. научно-исследовательский институт спиртовой промышленности.

Действительно при брожении чистой культуры дрожжей разность РВ совпадает с содержанием истинного сбраживаемого сахара, определяемого по глюкозному методу.

Культура дрожжей, применяемая в пищевой спиртовой промышленности, не дала более высокого выхода спирта, чем заводские дрожжи (при расчете на истинный сбраживаемый сахар). Тем не менее сравниваемые расы дрожжей не равноценны по своим функциям. Несахарная природа группы веществ, потребляемых заводскими дрожжами при брожении, доказывается также и следующим опытом (табл. 3), в котором гидролизат дали выбродить чистой культуре расы Томская № 7 (воспитанной на мелассе) до прекращения выделения CO_2, затем быстро отделили дрожжи на центрифуге, сразу же в прозрачную бражку задали новую порцию уже заводских дрожжей и продолжали брожение.

Таблица 3

Последовательное использование редуцирующих веществ гидролизата чистой и заводской культурами дрожжей

(150 мл среды, 3 г дрожжей)

Брожение	Культура дрожжей	Срок брожения в час.	Остаточных РВ в бражке в %	Спирт в об. %
Без смены культуры	Заводская	18	0,57	1,28
То же	Раса Томская № 7 .	18	0,88	1,27
Со сменой культуры	Раса Томская № 7 .	18	0,85	1,28
	Заводская	40	0,50	1,28

Заводские дрожжи после сбраживания расой Томская № 7 всех гексоз «потребили» 0,35% РВ без образования спирта. Обе культуры, сбраживая гидролизат, накапливают почти равные концентрации спирта, а различия в выходах спирта, только кажущиеся, вызваны расходом несахаров.

Далее разрешается вопрос: является ли способность к использованию редуцирующих несахаров адаптивным свойством гидролизных дрожжей? Известно, что молодые клетки более восприимчивы к влиянию внешней среды, чем зрелые, и образование адаптивных ферментов легче всего наблюдать в процессе деятельного размножения микроорганизмов. Поэто-

му мы поставили перед собой задачу: приучить чистую культуру дрожжей к потреблению редуцирующих несахаров, поставив ее в условия активного размножения в гидролизате в ряде генераций, и затем сопоставить глубину потребления РВ и накопление спирта у этой культуры с исходной. Размножение дрожжей вели в анаэробных условиях, задавая в каждой генерации 5 г дрожжей на 1 л гидролизата, содержащего питательные соли и автолизат; после 8—10 оборотов проводили стадию дозревания дрожжей в условиях активного брожения в гидролизате при концентрации дрожжей 30 г в 1 л (табл. 4).

Таблица 4

Влияние обновления дрожжевых культур в гидролизате на глубину использования РВ при брожении

Культура дрожжей	Культура	Новых клеток в %	Остаточн. РВ в брож. в %	Спирт в об. %
Заводская	Исходная	0	0,61	1,56
	Обновленная	93	0,50	1,58
Раса Томская № 7	Исходная	0	1,04	1,56
	Обновленная	72	0,77	1,56

После обновления в гидролизной среде глубина отброда РВ у чистой культуры дрожжей резко повысилась, но концентрация спирта в бражке сохранилась без изменения. Следовательно, способность к использованию посторонних редуцирующих веществ дрожжи приобретают в результате длительного пребывания в гидролизной среде.

Мы стремились выяснить характер приобретаемых этим путем изменений у дрожжевых клеток и сущность их воздействия на редуцирующие несахара гидролизата, не беря на себя задачи раскрытия химической природы последних, что выходило бы за рамки решаемых здесь вопросов.

Нам удалось всю сумму РВ разбить на группы, количественные соотношения которых в типовом образце гидролизата представлены в табл. 5.

Таблица 5

Группы редуцирующихся веществ гидролизата

Изменяемость при брожении	№ группы	Группы РВ	Количество РВ в %	% от начальных РВ
„Сбраживаемые" заводскими дрожжами	1	Несахара, осаждаемые уксуснокислым свинцом	0,11	3,45
	2	Фурфурол * (по прямому анализу) .	0,07	2,19
	3	Несахара, не осаждаемые свинцом (кроме фурфурола)	0,04	1,25
	4	Истинный сбраживаемый сахар . .	2,27	71,17
Несбраживаемые	5	Несахара, остающиеся в бражке, кроме пентоз	0,23	7,21
	6	Пентозы	0,47	14,73

* Фурфурол при брожении дрожжей диспутирует в фуриловый спирт и фуранкарбоновую кислоту.

Мы видим, что, кроме 71% от количества начальных РВ, представляющих собой действительно сбраживаемый сахар, еще 7% их исчезает при брожении, из которых только 3,5% осаждается уксуснокислым свинцом; это главным образом гуминовые вещества, уроновые кислоты и декстрины. Неизменяемая при брожении часть редуцирующих веществ, помимо пентоз, составляет около 7% от их исходного количества. Многократное исследование РВ — несахаров в различных образцах гидролизата подтвердило сложность их состава и лишь частичную их изменяемость при брожении. Попытки их отделения путем осаждения уксуснокислым свинцом, с исключением из расчета пентоз и фурфурола, привели к суммарному определению групп 3, 4 и 5, что не способствовало выяснению вопроса расхода сахаров или несахаров при брожении.

Для того чтобы несколько разобраться в природе воздействия гидролизных дрожжей на различные редуцирующие вещества, были поставлены нижеследующие опыты.

Опыт 1. Древесный гидролизат осажден раствором основного уксуснокислого свинца (при pH = 6,5—6,7 и нагревании) до полноты выпадения осадка. Избыток свинца удален током сероводорода, а избыток последнего током азота. Исходный гидролизат разбавлен до того же объема. Полученный осадок промыт, разложен сероводородом и доведен до $^1/_3$ объема обработанной пробы. Результаты сбраживания полученных проб заводскими дрожжами при pH = 5 показаны в табл. 6. В исходном гидролизате найдено 2,43% истинного сбраживаемого сахара по глюкозному методу [1]. Обычное осаждение уксуснокислым свинцом (без обработки H_2S) дало снижение РВ с 3,25 до 3,19%. Содержание пентоз 0,42%.

Таблица 6

Сбраживание гидролизатов после обработки уксуснокислым свинцом и сероводородом

Содержание сбраживаемого сахара в гидролизате (по глюкозному методу) — 2,43%. РВ после обычного осаждения уксуснокислым свинцом (без H_2S) — 3,19%

Среда	РВ в %			Спирт	
	начальные	остаточные	истрачено	в об. %	выход в % от теоретич. по истраченным РВ
Исходный нейтрализат	3,25	0,55	2,70	1,34	77,0
Нейтрализат, осажденный свинцом и обработанный H_2S	2,94	0,53	2,41	1,33	85,7
Осадок: разложен H_2S; сконцентрирован в 3 раза	0,19	0,19	0,00	0,00	—
Тот же осадок + глюкоза 2,32% . .	2,51	0,19	2,32	1,28	85,7
Глюкоза 2,32%	2,32	0,00	2,32	1,28	85,7

Сопоставим результаты сбраживания нейтролизата до и после обработки свинцом и H_2S: получено падение общих РВ (до брожения) на 0,31%, в то время как обычное осаждение свинцом (без H_2S) дало снижение только на 0,06%. В осадке, сконцентрированном в 3 раза, найдено 0,19% несбраживаемых РВ (т. е. те же 0,6% при пересчете на исходную концентрацию). Остаточные РВ и концентрация спирта практически не изменились при обработке. Разность РВ при сбраживании обработанной пробы (2,41%) совпадает с содержанием истинного сахара (2,43%). Наконец, выход спирта от истраченных РВ совпадает с выходом спирта из глюкозы (55,2 л). Вполне очевидно, что при совместном действии уксуснокислого свинца и H_2S получено количественное удаление группы

«сбраживаемых» редуцирующих несахаров, что не достигается одним осаждением уксуснокислым свинцом. Значит ли это, что полнота удаления этих продуктов обеспечивается одной обработкой сероводородом? Следующие опыты отвечают на этот вопрос.

Опыт 2. Гидролизат обработан сероводородом при pH = 5,6 без предварительного осаждения уксуснокислым свинцом (табл. 7). Содержание сбраживаемого сахара по глюкозному методу 2,74%.

Таблица 7

Удаление группы „сбраживаемых" несахаров сероводородом
(Содержание истинного сбраживаемого сахара 2,74%)

Среда	РВ в %			Спирт	
	начальные	остаточные	истрачено	в об. %	выход от теоретич. по истраченным РВ в %
Исходный нейтрализат	3,75	0,68	3,07	1,48	74,8
Нейтрализат, обработанный H_2S .	3,43	0,69	2,74	1,46	82,7

Опыт показывает, что H_2S удаляет «сбраживаемые» заводскими дрожжами несахара полностью.

Опыт 3. Часть исходного гидролизата обработана уксуснокислым свинцом, другая часть — сероводородом, а третья — последовательно свинцом и H_2S. В гидролизате 1,89% истинного сбраживаемого сахара. Объемы всех проб выравнены и концентрации сравнимы (табл. 8).

Таблица 8

Сбраживание гидролизата после раздельной обработки уксуснокислым свинцом и сероводородом
(Содержание сбраживаемого сахара 1,89%)

Среда	РВ в %			Спирт	
	начальные	остаточные	истрачено	в об. %	выход из 100 кг истраченных РВ в л
Исходный нейтрализат	2,59	0,49	2,10	1,05	50,0
Нейтрализат, осажденный свинцом	2,46	0,48	1,98	1,06	53,5
Нейтрализат, обработанный H_2S .	2,35	0,48	1,87	1,03	55,1
Нейтрализат, осажденный свинцом и обработанный H_2S . . .	2,35	0,47	1,88	1,05	55,9
Глюкоза 2,24%	2,24	0,00	2,24	1,24	55,4

Этот опыт суммирует результаты двух предыдущих. Действительно, уксуснокислый свинец, не затрагивая группу РВ, остающихся в бражке (помимо пентоз), снимает «сбраживаемые» несахара лишь частично. Сероводород, напротив, количественно выводит ту группу несахаров, которую потребляют при брожении заводские дрожжи, в отличие от дрожжей, воспитанных на пищевой среде. Сероводород может реагировать различно в такой сложной среде, как гидролизат древесины: 1) реакция может идти по линии образования меркаптанов; 2) возможно прямое осаждение тяжелых металлов в комплексных соединениях с редуцирующими колоидами и, наконец, 3) можно допустить простое восстанов-

ление карбонильных групп соединений до соответствующих им спиртов. Найденное нами количественное равенство между РВ (несахарами), удаляемыми сероводором и потребляемыми заводской культурой дрожжей, наводит на мысль об известной общности этих процессов. В этом случае, разумеется, первые два из указанных путей снижения редуцирующей способности гидролизата под влиянием H_2S исключаются. Если действительно сероводород действует как восстановитель, то мы должны также обнаружить различие в активности восстановления у заводских дрожжей и у чистых культур, воспитанных на солодовом сусле, поскольку нами было показано, что только заводские дрожжи снимают редуцирующую способность несахаров.

Способность дрожжей к восстановлению многих веществ известна с давних пор. Для того чтобы судить о деятельности энзимов, переносящих водород на акцептор, которым при нормальном брожении служит уксусный альдегид, мы воспользовались общепринятым методом определения дегидраз, применяя указанную терминологию и не углубляясь в изучение роли козимазы и фосфорного обмена; восстановительную способность дрожжей характеризовали по скорости обесцвечивания метиленовой синьки; при выборе донатора остановились на этиловом спирте (для сравнения дана также глюкоза). Результаты определения дегидраз представлены в табл. 9.

Таблица 9

Восстановительная способность у заводской и чистой культур дрожжей

(Определение активности дегидраз по Тунбергу. Восстановление метиленовой сини в присутствии толуола; pH = 6,6)

Культура дрожжей	Донатор водорода	Срок обесцвечивания метиленовой сини в минутах	
		получено в опыте	действие донатора
Заводская	М/10 спирт	50	24
	М/10 глюкоза	70	4
	Без донатора	74	—
Чистая культура раса XII	М/10 спирт	97	78
	М/10 глюкоза	172	3
	Без донатора	175	—

Действительно мы наблюдаем у чистой культуры дрожжей сильно замедленный восстановительный процесс по сравнению с заводской. Спирт активирует восстановление, а глюкоза почти не оказывает действия. Мы не допускаем, чтобы спирт играл роль донатора водорода при нормальном брожении (эта функция принадлежит уксусному альдегиду); концентрация спирта в бражке никогда не уменьшается по анализу; очевидно, что отнятие водорода от спирта обуславливается только введением в среду такого мощного акцептора, как метиленовая синька. Казалось бы, высокая активность дегидраз у заводских дрожжей должна была бы обеспечить у них гладкое завершение центральной оксидоредукции брожения с высоким выходом спирта. Если этого практически не происходит, то это значит, что заводские дрожжи обладают повышенной активностью каких-то других ферментативных систем, которые вызывают перевес хода брожения в сторону отклонения от нормального цикла. Какие именно побочные реакции играют эту роль и в каких условиях они наиболее интенсивны, покажут дальнейшие исследования.

Выводы

1. Заводские дрожжи, непрерывно бродившие и размножавшиеся в гидролизном сусле в течение ряда лет, обладают повышенной активностью дегидраз по сравнению с чистыми культурами дрожжей, воспитанными на солодовом сусле.

2. Это усиление восстановительных функций у гидролизных дрожжей связано с приобретаемой ими способностью снижать при брожении редукцию несахаров гидролизата.

3. Сероводород снижает редуцирующую способность несахаров гидролизата точно в том же количестве, как и заводские дрожжи при брожении. Следует полагать, что при этом карбонилсодержащие соединения восстанавливаются в соответствующие спирты.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт гидролизной и сульфитно-
спиртовой промышленности
Ленинград

Получено 26.VII.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кардо-Сысоева Е. К. и Утенкова-Ранцан В. А. О выходе спирта при дрожжевом брожении. I Учет фактического выхода спирта при сбраживании древесных гидролизатов. Микробиология, XXII, вып. 5, 1953.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ АНТИСЕПТИКОВ НА АМИЛАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ СОЛОДА

С. А. Коновалов

Соблюдение стерильности в бродильном производстве, основанном на жизнедеятельности дрожжей, имеет первостепенное значение.

Основным источником заражения спиртового производства посторонними микроорганизмами является солод, который имеет на своей поверхности разнообразную микрофлору. Если дезинфекция зеленого солода нагреванием, отрицательно действующим на амилазную активность, исключается, то обеззараживание может быть осуществлено лишь посредством химических веществ, т. е. антисептиков.

К антисептикам предъявляется ряд требований, например, они должны обладать высокобактерицидными свойствами и в то же время не должны инактивировать ферменты солода. Поэтому задача настоящей работы заключалась в том, чтобы установить относительную бактерицидность новых антисептиков [1, 2, 6], а именно — трихлорфенолята натрия, пентахлорфенолята натрия и бромистого цетилпиридиния по отношению к микрофлоре солода и выявить их действие на амилазную активность зеленого солода и солодового молока [1].

Экспериментальная часть

Под названием амилаз объединяются различные ферменты, расщепляющие крахмал. Указывают по крайней мере на три группы ферментов, действующих различным образом: 1) альфа-амилаза, 2) бета-амилаза и 3) декстриназа или декстрино-фосфатаза.

Поэтому качество солода определяется активностью отдельных компонентов, входящих в ферментативный комплекс амилазы. В настоящее время принято активность отдельных компонентов амилазы выражать условными единицами. Так, способность солода к расщеплению крахмала до декстринов, не окрашивающихся иодом, называют амилолитической способностью (АС), которая выражается в единицах, соответствующих количеству крахмала (в граммах), расщепляемого 1 г солода за 1 час при 30°; осахаривающая способность (ОС) определяется количеством крахмала в граммах, превращенного в мальтозу 1 г солода за 1 час, и, наконец, активность декстриназы или декстринолитическая способность (ДС) определяется количеством декстринов, расщепляемых 1 г солода за 1 час при 30°.

Влияние антисептиков на амилазную активность солода и солодового молока испытывалось следующим образом: определенные навески ячменного и просяного зеленого солода, взятые в равных соотношениях, или солодовой муки заливались раствором, содержащим различные количества антисептика. В таком растворе солод выдерживался в течение 30 минут или одного часа при 30°. По истечении указанного времени солод при помощи сита отделялся от раствора, сушился при 37° и тонко

[1] Последнее приготовляется из солода, предварительно тонко измельченного на мельнице и разбавленного водой.

измельчался на мельнице или в ступке. Солодовая вытяжка фильтровалась через бумажный фильтр и в ней определялась диастатическая активность по методу, разработанному во Всесоюзном научно-исследовательском институте спиртовой промышленности [3, 4].

Испытанию подвергались, наряду с полихлорфенолятами натрия и бромистым цетилпиридинием также хлорамин, гипохлорит натрия, хлорная известь, формалин, фтористый натрий и сернокислая медь. Указанные антисептики применялись в различных концентрациях.

При выяснении относительной бактерицидности различных антисептиков к микрофлоре зеленого солода последний в количестве 10 г растирался в ступке с водой (20 мл), содержащей антисептик; солодовое молоко в растворе антисептика выдерживалось в течение 30 минут, после чего оно переносилось в стерильное сусло (100 мл), в пробах которого периодически определялась кислотность.

Относительная бактерицидность различных антисептиков

Антисептические свойства трихлорфенолята натрия, пентахлорфенолята натрия и бромистого цетилпиридиния сравнивались между собой, а также с действием формалина и сернистого ангидрида, как наиболее из-

Таблица 1

Относительная бактерицидность различных антисептиков к микрофлоре зеленого солода

(Продолжительность обработки 30 минут)

Антисептик	Концентрация антисептика в %	Кислотность при самозакисании в °D		
		за 24 часа	за 48 час.	за 72 часа
Пентахлорфенолят натрия	0,02	0,3	1,2	1,1
	0,05	0,2	0,3	0,5
	0,10	0,2	0,3	0,3
Формалин	0,02	0,8	1,2	1,1
	0,05	0,2	1,1	1,0
	0,1	0,15	1,0	1,0
Сернистый ангидрид	0,02	1,1	1,1	1,0
	0,05	0,8	0,9	0,8
	0,10	0,5	0,7	0,7
Без антисептика	0	1,1	1,2	1,2
Бромистый цетилпиридиний	0,1	0,3	0,8	—
	0,2	0,2	0,5	—
Формалин	0,1	0,2	0,3	—
	0,5	0,2	0,2	—
Сернистый ангидрид	0,1	0,2	0,7	—
	0,5	0,2	0,3	—
Без антисептика	0	0,9	1,4	—
Трихлорфенолят натрия	0,05	0,4	0,8	—
	0,10	0,2	0,3	—
	0,20	0,1	0,2	—
Без антисептика	0	0,9	1,2	—

вестных и широко применяемых антисептиков. При этом было установлено, что по силе воздействия на микрофлору солодового молока лучшие результаты получились с пентахлорфенолятом натрия (табл. 1). Так, например, кислотность солодового молока, обеззараженного 0,05%-ным раствором пентахлорфенолята натрия, равнялась за первые сутки 0,2°, за вторые сутки 0,3° и за третьи сутки самозакисания 0,5°, а при самозакисании солодового молока, предварительно продезинфицированного растворами такой же концентрации формалина или сернистого ангидрида, кислотность равнялась 0,2—1,1—1,0 (формалин) и 0,8—0,9—0,8 (сернистый ангидрид), т. е. была значительно выше. Следовательно, формалин обеспечивал относительную стерильность солодового молока только за первые сутки самозакисания, а сернистый ангидрид не обеспечивал ее даже и за этот период времени.

Если бактерицидность указанных антисептиков, внесенных в солодовое молоко, сравнить с нарастанием кислотности, которая наблюдается при самозакисании его, то концентрация пентахлорфенолята натрия, равная 0,05%, будет соответствовать 0,1%-ной дозировке трихлорфенолята натрия и 0,2%-ной дозировке бромистого цетилпиридиния.

Таким образом, наилучшим антисептиком оказался пентахлорфенолят натрия; трихлорфенолят натрия, а также бромистый цетилпиридиний по антисептическим свойствам не уступает формалину и сернистому ангидриду.

После того как было установлено, что бромистый цетилпиридиний, трихлорфенолят натрия и пентахлорфенолят натрия являются высокобактерицидными веществами при внесении их в солодовое молоко, естественно, представило интерес испытать их действие на амилазную активность солода.

Влияние антисептиков на амилазную активность солодового молока

Экспериментально полученные результаты, сведенные в табл. 2, указывают на то, что новые антисептики — трихлорфенолят натрия, тетрахлорфенолят натрия, пентахлорфенолят натрия и бромистый цетилпиридиний, примененные в концентрациях 0,001—0,2%, не влияют отрицательно на амилазную активность солодового молока: ни один из компонентов амилазы не инактивируется указанными антисептиками. Так, например, после выдерживания солодового молока в течение одного часа в растворе пентахлорфенолята натрия амилолитическая активность вытяжки равнялась 8,0 единицы, осахаривающая — 7,1—7,6 единицы и декстринолитическая — 135 единицам. Амилазная или диастатическая активность солодового молока, не содержащего антисептика, равнялась соответственно — 8,0, 6,9 и 129 единицам. Следовательно, пентахлорфенолят натрия, применяемый в указанных концентрациях, не инактивирует амилазы солодового молока.

Активность амилазы оставалась постоянной и при обеззараживании солодового молока трихлорфенолятом натрия или бромистым цетилпиридинием. Таким образом, и последние антисептики при дезинфекции ими солодового молока так же, как и пентахлорфенолят натрия, не снижают амилолитической активности.

В отношении фтористого натрия полученные нами результаты соответствуют литературным данным [5], указывающим на том, что фтористые соли и, в частности фтористый аммоний отрицательно не действует на диастатическую силу солодовой вытяжки. Согласно же результатам, полученным нами, следует, что фтористый натрий, применяемый в концентрациях 0,03—0,06—0,1%, не снижает не только амилолитической, но и декстринолитической активности.

Таблица 2

Влияние антисептиков на амилазную активность солодового молока

Добавленный антисептик	Концентрация антисептика в %	Амилолитическая способность		Осахаривающая способность		Декстринолитическая способность		Примечание
		минуты *	единицы **	мальтозы в мг	единицы **	мальтозы в мг	единицы **	
Без антисептика	0	15	8,0		6,98		129,0	Солодовое молоко выдерживалось в растворе антисептика 1 час
Пентахлорфенолят натрия	0,005	15	8,0		7,1		135	
То же	0,01	15	8,0		7,6		135	
„ „	0,1	15	8,0		7,4		129	
Трихлорфенолят натрия	0,005	16	7,5		6,9		122	
То же	0,01	16	7,5		7,1		129	
„ „	0,1	15	8,0		7,1		129	
Без антисептика	0	8	7,5	30,9	7,0	16,4	164	Солодовое молоко выдерживалось в растворе антисептика 30 минут
Бромистый цетилпиридиний	0,001	8	7,5	28,0	6,6	14,0	140	
То же	0,0014	8	7,5	28,0	6,6	12,9	129	
Без антисептика	0	8	7,5	25,7	5,8	12,3	123	
Бромистый цетилпиридиний	0,002	10	6,0	25,7	5,8	12,3	123	
То же	0,002	10	6,0	26,6	6,5	12,3	123	
Без антисептика	0	8	7,5	30,9	7,0	16,4	164	
Сернистый ангидрид	0,02	9	6,6	25,7	5,7	16,9	169	
Хлорамин	0,1	75	0,8	12,0	2,4	8,2	82	
„	0,2	125	0,5	6,7	1,1	4,6	46,5	
Гипохлорит натрия		145	0,4	13,4	3,1	8,9	89,0	
То же		230	0,3	18,0	2,4	8,9	89,0	
Без антисептика	0	8	7,5	26,2	5,7	14,1	141	
Хлорамин	0,07	70	0,8	6,4	0,1	7,7	77	
„	0,1	115	0,5	6,1	0,4	3,6	36	
„	0,2	650	0,1	6,5	—	0,7	7	
Формалин	0,1	13	4,6	18,6	3,9	14,1	141	
„	0,2	27	2,2	16,9	3,5	14,1	141	
„	0,5	37	1,6	13,9	2,7	14,1	141	
Фтористый натрий	0,3	8	7,5	27,4	6,0	14,1	141	
То же	0,06	8	7,5	27,4	6,0	14,1	141	
	0,1	8	7,5	27,4	6,0	14,1	141	
Без антисептика	0	8	7,5	25,7	5,8	12,3	123	
Хлорная известь	0,1	8,5	0,7	11,5	2,4	7,7	77	
То же	0,2	200	0,3	5,8	1,0	3,6	36	

* Амилолитическая активность в минутах означает количество минут, необходимое для осахаривания 1 г крахмала 1 г солода.

** Единицы амилолитической, осахаривающей и декстринолитической способности означают количество субстрата в граммах, измененного 1 г солода за 1 час.

Другие антисептики, а именно гипохлорит натрия, хлорная известь, хлорамин и сернокислая медь, вводимые в солодовое молоко даже в незначительных количествах, соответствующих 0,07—0,1 и 0,2%, весьма существенно снижают диастатическую активность солодового молока. При этом инактивированию подвергаются как амилолитическая и осахаривающая способность, так и декстринолитическая. Так, например, хлорамин снижает (0,1; 0,2%) амилолитическую способность (АС) солодового молока в 9—15 раз; гипохлорит натрия — 19—25 раз, а сернокислая медь (0,2; 0,4%) практически полностью инактивирует АС солода. Следовательно, эти антисептики нельзя применить для обеззараживания солодового молока.

Специфическое действие на комплекс солодовой амилазы оказывает формалин: он снижает амилолитическую (в 1,5—3 раза) и осахаривающую активность (1,2—2 раза), в то же время нисколько не инактивирует декстринолитической активности. Этот факт может быть использован при дальнейшем изучении отдельных компонентов амилазы.

Влияние антисептиков на амилазную активность зеленого солода

Амилаза зеленого солода в меньшей степени, чем ферменты солодового молока, может быть подвергнута воздействию антисептиков. Кроме того, раствор антисептика, примененный для дезинфекции зеленого солода, после его использования не вносится в сбраживаемый субстрат и тем самым его действие не может сказаться на качестве продукта.

Таблица 3

Влияние антисептиков на амилазную активность зеленого солода

(Зеленый солод выдерживался в растворе антисептика в течение 30 минут)

Антисептик	Концентрация антисептика в %	Амилолитическая способность		Осахаривающая способность		Декстринолитическая способность	
		минуты	единицы	мальтоза в мг	единицы	мальтоза в мг	единицы
Без антисептика	0	12	10	38,1	8,7	5,9	59,0
Хлорная известь	0,1	12	10	38,1	8,7	3,7	87,0
То же	0,2	12	10	38,1	8,7	8,7	87,0
„ „	0,2	12	10	38,1	7,0	7,0	70,0
Без антисептика	0	14	8,5	44,0	10,0	2,3	23,0
Хлорная известь	0,2	14	8,5	41,1	9,3	1,2	12,0
Хлорамин	0,2	14	8,5	42,8	9,7	2,9	29,0
Гипохлорит натрия	1 мл	14	8,5	44,0	10,0	2,3	23,0
Без антисептика	0	10	12	43,5	10,0	4,7	47,0
Формалин	0,1	10	12	46,5	10,7	5,3	53,0
Бромистый цетилпиридиний	0,001	10	12	44,0	10,1	5,8	58,0
То же	0,002	10	12	44,0	10,1	5,8	58,0
Без антисептика	0	15	8,0	41,7	9,5	2,9	29,0
Сернокислая медь	0,2	15	8,0	39,1	8,9	4,8	48,0
То же	0,5	18	6,6	34,6	7,8	5,5	55,0
„ „	1,0	20	6,0	33,7	7,6	4,0	40,0

В силу указанных причин для дезинфекции зеленого солода возможно применение повышенных концентраций антисептиков. Иногда повышение дозировок также связано с тем обстоятельством, что некоторые антисептики имеют поверхностное действие.

Полученные по данному разделу результаты, сведенные в табл. 3, указывают на то, что различные антисептики, а именно — гипохлорит натрия, хлорная известь, хлорамин, сернокислая медь и другие — не оказывают отрицательного действия на амилазную активность солода. Только высокие концентрации сернокислой меди, соответствующие 0,5—1,0%, снижают амилолитическую активность солода с 8,0 единиц до 6,6—6,0 единиц и осахаривающую способность — с 9,5 до 7,8—7,6 единицы. Декстринолитическая же способность всюду остается или неизменной или повышается.

Выводы

1. Испытанные соединения (пентахлорфенолят натрия, трихлорфенолят натрия и бромистый цетилпиридиний) оказались эффективными антисептиками против посторонней микрофлоры зеленого солода.

2. Указанные антисептики не влияют отрицательно на диастатическую активность солодового молока; ни один из компонентов амилазы не инактивируется ими.

3. Гипохлорит натрия, хлорная известь, хлорамин или сернокислая медь, вводимые в солодовое молоко даже в незначительных количествах (0,07—0,2%), весьма существенно снижают его диастатическую способность, при этом инактивированию подвергаются как амилолитическая и осахаривающая способность, так и декстронолитическая.

4. Все испытанные антисептики практически не оказывают отрицательного действия на амилазную активность зеленого солода, за исключением лишь сернокислой меди, применяемой в высоких концентрациях (0,5—0,1%).

Всесоюзный научно-исследовательский институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 20.IV 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вашков В. И. (под редакцией). Организационно-методические материалы по дезинфекции, дезинсекции и дератизации. Медгиз, М., 1950.
2. Гандельсман Н. И., Рокицкая М. С. и Тимонич О. П. Пентахлорфенолят натрия как новый бактерицид. Тр. Центр. научно-иссл. дезинфекц. ин-та, № 4, стр. 24, 1948.
3. Климовский Д. Н. и Родзевич В. И. Гидролиз крахмала при действии амилазы различного происхождения. Биохимия, 14, вып. 1, стр. 26, 1949.
4. Климовский Д. Н. и Стабников В. Н. Технология спиртового производства. Пищемпромиздат, М., 1950.
5. Лебедев С. Методы непрерывного алкогольного сбраживания. Сборник работ по спиртовой промышленности, 2-й выпуск, Пищепромиздат, 1938.
6. Мельников Н. Н., Сухарева Н. Д. и Тимонич О. П. О бактерицидной активности некоторых солей четвертичных аммониевых оснований. Тр. Центр. научно-иссл. дезинфекц. ин-та, № 5, 1949.

СБРАЖИВАНИЕ КОРМОВОЙ ПАТОКИ НИЗОВЫМИ ПИВНЫМИ ДРОЖЖАМИ

Н. И. Сербинова и *Е. В. Сокольская*

При переработке кормовой патоки на спирт производство несет значительные потери, вызванные неполным сбраживанием рафинозы, часто присутствующей в патоках в количестве 1—3% [3].

Применяющиеся в паточном производстве спирта верховые дрожжи Saccharomyces cerevisiae сбраживают рафинозу на одну треть, отщепляя от нее только фруктозу, дисахарид же мелибиоза остается несброженным из-за отсутствия у этих дрожжей фермента мелибиазы (α-галактозидазы).

В связи с вышесказанным возникает необходимость в подыскании таких дрожжей, которые, быстро сбраживая патоку, по возможности нацело сбраживали бы и содержащуюся в ней рафинозу.

Среди большого количества дрожжевых культур, применяющихся в технологии брожения, наиболее глубоко сбраживающими рафинозу считаются низовые дрожжи Sacch. cerevisiae, употребляющиеся в производстве пива [1, 7, 8]. Имеются также краткие указания [2] на сбраживание рафинозы некоторыми расами винных дрожжей, делящимися дрожжами и немногими другими сахаромицетами (Гильермон [8]), как, например, Sacch. Ludvigii, Zygosacch. mandschurieus, Sacch. coreanus, Sacch. anamensis, а также некоторыми разновидностями Willia.

Кормовая патока содержит малые количества усвояемых дрожжами соединений фосфора и азота и почти совсем не содержит витаминов и других веществ, необходимых для развития дрожжей, поэтому выращенные на патоке дрожжи всегда менее упитаны и имеют меньше гликогена, чем дрожжи, выращенные на солодовой среде [6].

Кроме 50—52% сахарозы и небольшого количества инвертного сахара, меласса содержит 25—30% различных веществ, известных под общим названием «несахара», состоящих из минеральных и органических солей, а также из значительного количества карамелей, не сбраживаемых и тормозящих процесс брожения.

При подкислении патоки из некоторых органических солей образуются летучие кислоты, отрицательно влияющие на брожение.

Комарова [4], приучая дрожжи расы Я к сбраживанию патоки высоких концентраций, выявила, что с каждым пересевом в патоку одной и той же концентрации дрожжи вызывают все более и более слабое брожение, причем торможение это тем сильнее, чем выше концентрация патоки. Путем многих пересевов при постепенно повышающейся концентрации патоки автору удалось приучить дрожжи расы Я к патоке в 19° Блг., на которой они затем повторно культивировались без снижения бродильной активности. Эти дрожжи лучше и быстрее сбраживали концентрированные патоки в 25 и 30° Блг., чем дрожжи неприученные, воспитанные на патоке 12° Блг.

В настоящей работе изложены предварительные данные опытов по отбору дрожжей, хорошо сбраживающих мелибиозу, и приучению их к брожению в патоке путем частых пересевов на паточных средах.

Методика опытов

Применяющиеся в опытах дрожжи были подвергнуты десятикратному рассеву и выделению из одной колонии на солодовом агаре.

Испытание различных рас винных, пивных и спиртовых дрожжей на сбраживание рафинозы производилось на 1, 2 и 3%-ных растворах трисахарида в пробирках с газоуловителями при pH среды, равном 5,25, и кислотности 0,66° Д, а также на 1%-ном нейтральном (pH = 7,2) растворе рафинозы с индикатором бромтимол синий. Растворы рафинозы готовились на дрожжевом автолизате из пекарских дрожжей.

Результаты опытных брожений учитывались по выделенной углекислоте, образовавшемуся спирту и недоброженному сахару. Общий и остаточный сахар в патоке определялся по редуцирующим веществам после инверсии сахарозы по Герцфельду.

Степень сбраживания рафинозы опытными дрожжами определялась по инвертному сахару до и после гидролиза мелибиозы [6]. Для гидролиза 40 мл осветленного раствора патоки, содержащего рафинозу, смешивали с 36 мл дистиллированной воды и

4 мл соляной кислоты удельного веса 1,19 в мерной колбе на 100 мл и нагревали 60 минут в кипящей бане. По истечении этого времени содержимое колбы охлаждалось, нейтрализовалось 30%-ным раствором NaOH и доводилось до метки, после чего в нем определялись редуцирующие сахара по Бертрану.

В тех случаях, когда опыты ставились в пробирках с раствором рафинозы, для анализа брали 5 мл среды и разбавляли в 10 раз. Для гидролиза брали 20 мл разбавленного раствора, соответственно уменьшая количество добавляемой воды и кислоты. Гидролиз проводился также в течение одного часа.

Расчет производился на инвертный сахар, так как продукты расщепления рафинозы при гидролизе состоят на $^2/_3$ из инвертного сахара и на $^1/_3$ из галактозы, восстановительная способность которой близка к инвертному сахару [8].

Гидролиз рафинозы по этому способу проходил полностью, так как после гидролиза в 2%-ном растворе ее мы получали 1,8% инвертного сахара. При теоретическом расчете полный гидролиз 2%-ного раствора рафинозы дает 1,77% инвертного сахара. Из них 0,59% приходится на долю фруктозы и 1,18% на долю мелибиозы.

Испытание и отбор дрожжевых культур, сбраживающих рафинозу

Предварительный отбор был сделан на основании качественной пробы на сбраживание рафинозы, которая производилась на 1%-ном растворе трисахарида, приготовленном на нейтральном дрожжевом автолизате с индикатором бромтимол синий. Испытывались: спиртовые паточные дрожжи Я-а — лабораторный и производственный штаммы, винные дрожжи — Яблочные 8—50 и 8—69 — Ленинградские (Кирьялова), Яблочные 8 — Одесские, Москва 30 и 31 (Чекан) и Eger — чехословацкие. Пивоваренные слабобродящие дрожжи были представлены расами: И-Берлинские, Заац, К-Венские и S; пивные сильнобродящие — расами 776, P, N, R и B. Испытывались также делящиеся дрожжи Schizosaccharomyces pombe.

Наиболее глубоко сбраживали рафинозу низовые пивоваренные сильнобродящие расы дрожжей, вызывавшие явное пожелтение индикатора и газообразование в пробирках. Пивоваренные же слабобродящие, винные и спиртовые расы дрожжей вызвали только легкое посветление индикатора почти без образования газа. Дрожжи Schizosacch. pombe не изменяли цвета индикатора.

Проба на сбраживание рафинозы была произведена затем на 3%-ном растворе трисахарида, приготовленного на дрожжевом автолизате, налитого по 5 мл в пробирки с газоуловителями. Количество редуцирующих веществ в этом растворе после гидролиза было определено в 2,7% инвертного сахара.

В опыте испытывались: шесть рас низовых пивных сильнобродящих дрожжей, спиртовые дрожжи Я-а, 2 расы пивных дрожжей — Яблочные 8 и Eger и пивные слабобродящие дрожжи К-Вена.

Брожение длилось 10 дней, до прекращения выделения газа, после чего во всех опытных пробах был определен несброженный сахар по редуцирующим веществам. Результаты приведены в табл. 1.

Опыт показал, что сильнобродящие низовые пивные дрожжи имеют очень активную мелибиазу, благодаря чему все они сбраживают 3%-ный раствор рафинозы до конца, тогда как слабобродящие низовые пивные дрожжи К-Вена сбраживают рафинозу частично, расщепив мелибиозу только на 14,4%.

Спиртовые паточные дрожжи Я-а так же, как и обе расы винных дрожжей (Яблочные 8 и Eger), сбраживали одну только фруктозу, совершенно не тронув мелибиозы. Испытанный на 2%-ном растворе рафинозы грибок Asp. niger также не расщепил мелибиозы.

Учитывая то обстоятельство, что пивоваренные дрожжи обладают сильно развитой бродильной функцией и что они полностью сбраживают рафинозу, мы сочли необходимым поставить опыты по приучению низовых пивных дрожжей к сбраживанию патоки. Однако сначала надо было выяснить, как поведут себя эти дрожжи в паточной среде.

Таблица 1

Сбраживание 3%-ного раствора рафинозы различными дрожжами

Название дрожжей	Газовыделение	Продолжительность видимого брожения в днях	Несброженный сахар по редуцирующим веществам в %
Пивные низовые сильнобродящие: P, B, 776, R; N лабораторная; N — производственная	Интенсивное	3—5	Нет
Пивные слабобродящие К — Вена	Слабое	10	1,54
Винные: Яблочные 8	»	10	1,8
Винные: Eger	Очень слабое	10	1,74
Спиртовые Я-а	Слабое	10	1,8

Для этого был поставлен опыт сбраживания стерильной паточной среды (20% сухих веществ, кислотность 0,45° Д, pH = 5,1), разлитой в колбы по 75 мл. Для каждой расы дрожжей предназначались две колбы: водной, куда дрожжи засевались петлей с солодовой среды, происходило их размножение, после чего они целиком переливались во вторую — бродильную колбу. Все колбы взвешивались. Спиртовые дрожжи были представлены лабораторной расой Я-а и производственной культурой с Лохвицкого спиртового завода, пивоваренные — производственной расой N и расами 776, B, P и R (рис. 1). Брожение шло при температуре 22—24°. По окончании брожения было определено содержание спирта и оставшийся недобродженным сахар. Результаты опыта и интенсивность брожения приведены в табл. 2 и на рис. 1.

Рис. 1. Сбраживание паточного сусла пивными и спиртовыми дрожжами: *1*—раса Я-а; *2*—раса B; *3* — раса 776

Спиртовые дрожжи размножились и забродили на другой же день после засева, в то время как пивоваренные начали размножаться только на третий — четвертый день.

Брожение продолжалось у спиртовых дрожжей 5 дней, считая с момента перелива в бродильный сосуд, а у пивоваренных — 7—18 дней.

Таблица 2

Сбраживание паточного сусла пивными и спиртовыми дрожжами

Название дрожжей	CO_2 на 100 мл в г	Спирт в %		Недоброженный инвертный сахар в %
		весовых	объемных	
Я-а	7,9	7,95	9,92	0,65
Лохвицкие спиртовые	7,96	7,68	9,59	0,73
B	7,62	7,75	9,68	1,21
N	6,72	—	—	2,86
776	5,64	5,59	7,00	4,59
R	5,74	5,72	7,16	6,73
P	5,16	5,28	6,61	5,28

Почти все пивные дрожжи плохо сбраживали патоку и дали мало спирта, оставив недоброженным много сахара. Исключением явилась лишь раса В, у которой в бражке было больше спирта, чем у Лохвицких спиртовых дрожжей, и мало остаточного сахара. Лучше остальных сбродила патоку также пивоваренная производственная раса N.

Как видно из опыта, раса В оказалась более других приспособленной к сбраживанию патоки. Эту расу в первую очередь и начали приучать к более быстрому и полному сбраживанию патоки.

Опыты по приучению низовых пивоваренных сильнобродящих дрожжей к сбраживанию патоки

Приучение производилось путем частых, почти ежедневных пересевов в стерильную паточную среду, содержащую 17—18% сухих веществ, подкисленную серной кислотой до 0,5—0,7° Д, по схеме, принятой на паточных заводах, где в дрожжевой чан вносится 10%, а в бродильный — 50% дрожжей.

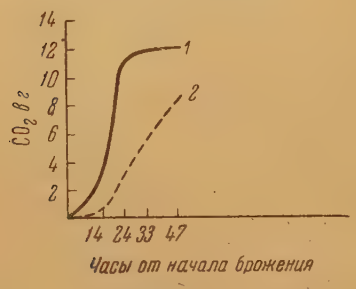


Рис. 2. Сбраживание паточного сусла дрожжами: *1* — раса В приученная; *2* — раса В неприученная

10% суточных дрожжей с солодового сусла высевались в 100 мл паточной среды и размножались в ней при 30° до образования 3—4% спирта, который учитывался по углекислоте. Затем все 100 мл дрожжей переливались в 100 мл паточной среды и оставлялись для брожения на 48 часов при 30°. По окончании его они снова размножались в свежей паточной среде (10% дрожжей на 100 мл среды) и опять, смешанные в равных количествах со свежей средой, ставились на 48 часов для брожения. Приучение длилось больше двух месяцев. Всего было сделано 30 пересевов расы В. Результаты приучения стали заметны при первых пересевах и выразились в усилении бродильных свойств расы В и приближении ее в этом отношении к спиртовой расе Я-а. Несброженный сахар снизился до 0,6% по редуцирующим веществам. Вначале сильно отставала функция размножения. При первом — втором пересевах от момента засева до начала брожения проходило четыре дня, при третьем — дрожжи размножались за два дня, при четвертом — за 24 часа и дальше размножались в течение нескольких часов. Количество дрожжевых клеток в 1 мл среды при первых посевах достигало всего лишь 72—95 млн., в дальнейшем же оно увеличилось до 150—200 млн. Количество мертвых клеток у расы В было всегда значительно меньше и клетки ее были крупнее и более круглые, чем у расы Я-а.

Брожение при первых пересевах продолжалось 5—6 дней, при 12—17 оно ускорилось до трех дней, после 20 пересевов — до 48 часов, а после 25 — до 36 часов.

В табл. 3 и на рис. 2 представлены результаты опытов сбраживания патоки приученными (в 26 пересевах) и неприученными (в 2 пересевах) дрожжами расы В. Размножение дрожжей и брожение проводились по вышеуказанной методике.

Для опытов применялась патока, имеющая 78% сухих веществ, сахара (прямой поляризацией) — 52,6%, инвертного сахара — 0,91%, сахарозы — 50,78%, рафинозы — 2%, сбраживаемых сахаров — 52,32% (содержание сахаров определялось инверсионно-поляриметрическим методом), pH = 6,3, кислотность — 1,3° Д, зольность — 10,17%.

Из таблицы видно, что неприученные дрожжи расы В за 47 часов брожения оставили в 3—4 раза больше несброженного сахара и дали на

Таблица 3

Сбраживание патоки приученными и неприученными дрожжами расы В

№ опыта	Варианты опытов	Выделено CO_2 на 100 мл среды в г	Спирт в %		Инвертный сахар в %		Не сброжено мелибиозы в % инвертного сахара
			весовых	объемных	после инверсии	после гидролиза мелибиозы	
1	Исходное сусло .	—	—	—	12,25	—	—
	Приученные . . .	5,93	5,66	7,1	0,4	0,53	0,13
	Неприученные . .	4,29	5,09	6,38	1,6	1,9	0,3
2	Приученные . . .	—	5,72	7,16	0,38	0,59	0,21
	Неприученные . .	—	5,28	6,61	1,06	1,28	0,22

0,58% меньше спирта, чем приученные. Как приученные, так и неприученные дрожжи оставили несброженной 0,2—0,3% мелибиозы.

На 28—30-м пересеве дрожжи В достигли такой же скорости сбраживания патоки, как и раса Я-а, но дали больше спирта, что видно из

Рис. 3. Сбраживание паточного сусла (16,75° Блг.): *1* — раса Я-а и раса В; *2* — раса N

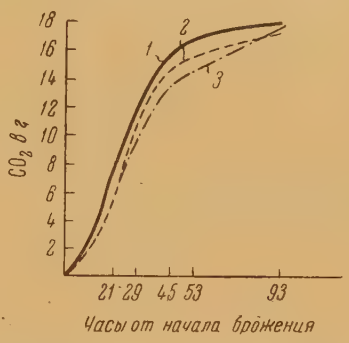


Рис. 4. Сбраживание концентрированного паточного сусла (24,5° Блг.): *1* — раса В; *2* — раса Я-а; *3* — раса N

опытов, приведенных в табл. 4 и на рис. 3. В этих опытах участвовала и пивоваренная раса N, прошедшая предварительно 14 пересевов в паточной среде. Здесь так же, как и в предыдущих опытах, все три расы дрожжей оставили несброженными около 0,2—0,3% мелибиозы.

Следующие опыты были поставлены с более крепким суслом, имеющим 24,5% сухих веществ и кислотность 0,63° Д. В этих опытах при сбраживании среды с более высоким содержанием патоки пивные дрожжи расы В снова оказались сильнее спиртовой расы Я-а (табл. 5 и рис. 4) — они выделили значительно больше углекислоты и дали больше спирта. Повидимому, раса В расходует сахар экономнее, чем спиртовые дрожжи Я-а.

Проведенные опыты показали, что сильнобродящие расы пивоваренных низовых дрожжей довольно быстро приучаются к сбраживанию патоки и некоторые из них (раса В) образуют больше спирта, чем паточные дрожжи расы Я, что очень важно для спиртового производства. Во всех опытах осталось несброженной 0,2—0,3% мелибиозы.

Таблица 4

Сбраживание паточного сусла дрожжами Я-а, В и N
(16,75° Блг.)

№ опыта	Варианты опытов	CO_2 в г на 100 мл среды	Спирт в %		Инвертный сахар в %			Кислотность в мл 1N NaOH на 20 мл среды	pH	Дрожжевых клеток в 1 мл среды в млн.
			весовых	объемных	после инверсии	после гидролиза мелибиозы	не сброженно мелибиозы			
1	Сусло до брожения	—	—	—	12,25	—	—	—	—	—
	Дрожжи Я-а	5,88	5,84	7,31	0,4	0,6	0,2	0,7	5,5	147,54
	„ В	5,88	6,16	7,71	0,38	0,6	0,22	0,67	5,6	153,9
	„ N	5,25	5,65	7,08	0,505	0,7	0,195	0,83	5,2	138,29
2	Сусло до брожения	—	—	—	14,14	—	—	—	—	—
	Дрожжи Я-а	—	6,29	7,87	0,46	0,7	0,24	—	—	—
	„ В	—	6,57	8,22	0,45	0,7	0,25	—	—	—
	„ N	—	6,42	8,03	0,55	0,82	0,27	—	—	—

Таблица 5

Сбраживание концентрированного паточного сусла
(24,5° Блг.)

№ опыта	Варианты опытов	CO_2 в г на 100 мл среды	Спирт в %		Инвертный сахар в %	Кислотность в мл 1N NaOH на 20 мл среды	pH
			весовых	объемных			
1	Сусло до брожения	—	—	—	18,61	0,65	5,05
	Дрожжи Я-а	8,83	8,79	10,95	0,7	0,96	4,9
	„ В	9,06	8,92	11,11	0,6	0,92	5,0
	„ N	8,73	8,02	10,01	1,75	0,99	4,8
2	Дрожжи Я-а	Не взвешивались	8,55	10,66	0,58	—	—
	„ В		8,62	10,75	0,72	—	—
	„ N		8,22	10,26	1,22	—	—

Одинаковая картина брожения у пивоваренных дрожжей и у спиртовых дрожжей расы Я заставляет предполагать, что дрожжи расы Я были когда-то выведены из пивоваренных дрожжей.

Опыты по сбраживанию патоки с добавлением 2% рафинозы

Принимая во внимание то обстоятельство, что предыдущие опыты брожения проводились на патоке, содержащей в неразбавленном виде 2% рафинозы и что несброженный сахар после гидролиза мелибиозы всегда получался на 0,13—0,3% выше, чем до гидролиза, необходимо было точно выяснить степень сбраживания мелибиозы приученными к патоке пивными дрожжами. Для этого были поставлены новые опыты с паточным суслом (16,75% сухих веществ), к которому добавлялось 2% рафинозы. В 25 мл сусла размножались дрожжи, которые затем переливались в такую же порцию сусла и отбраживали в течение 87—280 часов. Контролем служило то же сусло без рафинозы. Количество несброженной рафинозы (мелибиозы) определялось по инвертному сахару до и после гидролиза. Результаты опытов показаны в табл. 6.

Таблица 6

Сбраживание паточного сусла с 2% рафинозы

Варианты опытов	CO_2 на 100 мл в г	Инвертный сахар в %		Количество мелибиозы в %	Не сброжено мелибиозы в %
		до гидролиза мелибиозы	после гидролиза мелибиозы		
Дрожжи Я-а + рафиноза . . .	6,3	1,16	1,8	1,1	93
„ Я-а	6,0	0,425	0,7	—	—
„ В + рафиноза . . .	6,38	1,15	1,81	1,11	94
„ В	6,4	0,425	0,7	—	—
„ N + рафиноза . . .	6,14	1,4	2,12	1,26	1
„ N	6,04	0,6	0,86	—	—
2%-ный раствор рафинозы . .	—	—	—	1,18	—

По выделению углекислоты и по несброженному сахару видно, что брожение шло одинаково в обеих колбах. Во всех вариантах опыта мелибиоза осталась несброженной.

Другой опыт (табл. 7) был проведен на паточном сусле с добавлением 1% рафинозы. Брожение шло на низовых пивоваренных дрожжах 776 и Р, предварительно прошедших через 10 пересевов в паточном сусле. В первом варианте опыта брожение длилось 7 дней, а во втором варианте — 12 дней.

В этом опыте, так же как и в двух предыдущих, мелибиоза не сбраживалась.

Таблица 7

Сбраживание паточного сусла с 1% рафинозы

№ опыта	Варианты опытов	CO_2 на 100 мл среды в г	Инвертный сахар в %		Количество мелибиозы в %	Не сброжено мелибиозы в %
			до гидролиза мелибиозы	после гидролиза мелибиозы		
1	776 с рафинозой . . .	6,52	0,77	1,15	0,63	100
	776 без рафинозы . . .	5,8	0,23	0,52	—	—
2	776 с рафинозой . . .	6,62	0,72	1,19	0,6	100
	776 без рафинозы . .	6,00	0,37	0,59	—	—
	Р с рафинозой	6,64	0,77	1,25	0,64	100
	Р без рафинозы . . .	6,1	0,36	0,59	—	—
	1%-ный раствор рафинозы	—	—	0,89	0,6	—

Повидимому, при культивировании в паточной среде низовые пивоваренные дрожжи не образуют мелибиазы и сбраживают рафинозу только на $^1/_3$.

Чтобы судить о мелибиазной активности дрожжей до посева в патоку и после 10—30 пересевов в паточной среде, все опытные культуры были высеяны в питательную среду, состоящую из автолизата пекарских дрожжей с 2% рафинозы. Каждая культура высевалась с солодового сусла и с паточной среды. По окончании брожения во всех пробирках был определен несброженный остаток рафинозы (табл. 8). Оказалось, что как исходные, так и бывшие в патоке культуры сохранили свою активность и почти нацело сбраживали рафинозу в автолизатной среде. Только раса В, в процессе приучения еще сбраживавшая мелибиозу, после 30 пересевов в патоке перестала сбраживать ее.

Таблица 8

Сбраживание автолизатной среды с 2% рафинозы

Варианты опытов	Опыт 1		Опыт 2	
	продолжительность опытов			
	12 дней		11 дней	
	инвертный сахар после гидролиза мелибиозы в %	сброжено мелибиозы в %	инвертный сахар после гидролиза мелибиозы в %	сброжено мелибиозы в %
Исходная среда	1,18	—	1,18	—
Расы 776, P (с сусла)	0,02—0,03	98	0,02—0,03	98
(с патоки)				
Раса N производственная (с сусла)	Нет	100	0,02—0,03	98
(с патоки]				
Раса B (с сусла)	0,02—0,03	98	0,02—0,03	98
(с патоки)	0,16 (в процессе приучения к патоке)	86,4	1,26 (приученная к патоке после 30 пересевов)	0

Для выяснения вопроса о том, какие же компоненты паточной среды мешают сбраживанию мелибиозы и, прежде всего, как действует на этот процесс сахароза, был поставлен опыт с четырьмя расами пивоваренных дрожжей на той же автолизатной среде с 2% рафинозы, только к ней добавлялось еще и 10% сахарозы.

Таблица 9

Сбраживание автолизатной среды с 2% рафинозы и 10% сахарозы

Расы пивоваренных дрожжей	Инвертный сахар после гидролиза мелибиозы в %	Сброжено мелибиозы в %
776	0,13	89
P	0,33	72
R	0,98	17
B неприученная	0,37	69

Продолжительность опыта 12 дней.

Результаты опыта, приведенные в табл. 9, показывают, что присутствующая в среде сахароза тормозит сбраживание мелибиозы, причем торможение это у разных дрожжей проявляется различно. Раса R в присутствии сахарозы сбраживала только 17% мелибиозы. Можно предполагать, что в такой неблагоприятной среде, как патока, тормозящее действие сахарозы проявляется сильнее. Подобное ослабление и даже исчезновение ферментных свойств на неполноценных питательных средах в присутствии других легче сбраживаемых сахаров наблюдалось Кудрявцевым [5] у приученных к мальтозе дрожжей.

Выводы

1. При отборе дрожжей, полностью сбраживающих рафинозу, наиболее активными оказались низовые пивоваренные сильнобродящие дрожжи 776, N, P, R и B. Слабобродящие пивоваренные дрожжи почти не сбраживали мелибиозу. Винные дрожжи Яблочные 8,8—50, 8—69 и Eger сбраживают рафинозу на $^1/_3$ и совершенно не расщепляют мелибиозу.

2. Некоторые расы низовых пивных дрожжей легко приучаются к сбраживанию паточного сусла и дают высокий процент спирта.

3. При культивировании в паточном сусле низовые пивные дрожжи расы В, N, Р и 776 сбраживают находящуюся в нем рафинозу на $^1/_3$, так же как и спиртовые дрожжи расы Я, и не расщепляют мелибиозы. В автолизатной среде эти же дрожжи полностью сбраживают 2—3% рафинозы.

4. В присутствии 10% сахарозы в автолизатной среде низовые пивные сильнобродящие дрожжи сбраживают рафинозу неполностью. В этом случае остается несброженной 11—83% мелибиозы.

5. Причина несбраживания мелибиозы в патоке заключается, повидимому, в неполноценности патоки, как питательной среды и в присутствии легко усвояемой дрожжами сахарозы.

Киевский филиал
Всесоюзного научно-исследовательского
института спиртовой промышленности

Получено 16.II 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Головин П. В. Технология сахарного производства, стр. 50 и 334, 1949.
2. Квасников Е. И. и Хроликова В. Г. Новые расы дрожжей для виноделия Узбекистана. ДАН Узб. ССР, стр. 27, 1948.
3. Климовский Д. Н. и Стабников В. Н. Технология спиртового производства, М., 1950.
4. Комарова Л. И. Селекция дрожжей, сбраживающих патоку высоких концентраций. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, 1, стр 137, 1951.
5. Кудрявцев В. И. Эволюция ферментативных свойств у дрожжей рода Saccharomyces. Микробиология, **VIII**, 395, 1939.
6. Лещинская С. С. Влияние производственных условий на улучшение бродильных свойств спиртовых рас дрожжей. Микробиология, **XX**, 525, 1951.
7. Шапошников В. Н. Техническая микробиология, 1947.
8. Guilliermond A. The yeasts, p. 197, 1920.

СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Г. Т. Павловский

Для изготовления препарата для электронной микроскопии обычно наносят на металлическую (2—3 мм в диаметре) сетку тончайшую нитроцеллюлозную пленку, а на пленку — объект исследования. Сетка с пленкой называется подложкой и соответствует предметному стеклу в оптической микроскопии. Таков основной порядок изготовления препаратов.

Из доступных нам литературных данных известно, что способы изготовления подложек для препаратов, применяемых в лабораториях, весьма кропотливы, а пленки иногда рвутся и очень трудно обеспечить их стерильность.

Эти обстоятельства побудили нас упростить способ приготовления подложек для электронной микроскопии.

На дно чашки диаметром 20 см кладется на специальном подъемнике (рис. 1) стекло размером 50 × 50 мм. В чашку наливается дистиллированная вода, покрывающая стекло слоем до 10 мм. На стекло опускаются

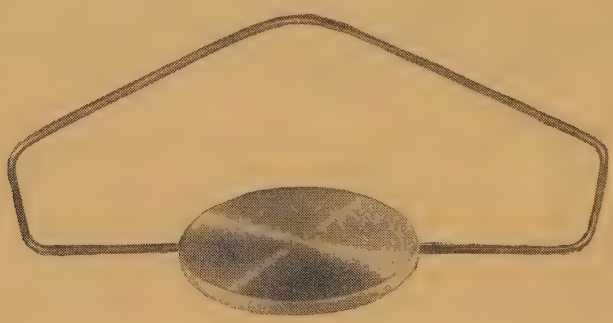


Рис. 1

в нужном количестве, сохраняемые до употребления в спирте, сеточки (рис. 2). В чашку на спокойную поверхность, слегка касаясь воды каплей, стекающей со стеклянной палочки, наносят 2%-ный раствор нитроклетчатки в амилацетате; после этого чашка накрывается колпаком.

Толщина пленки зависит от объема капли, поэтому нужный диаметр стеклянной палочки (4—5 мм) устанавливается в опыте; для этого нужен набор палочек разного диаметра. В тех случаях, когда края пленки не доходят до стенок сосуда, получается очень тонкая и вполне хорошая пленка.

Появившуюся на воде пленку через 15 минут можно считать готовой. Стекло с сеточками аккуратно поднимается и вынимается из воды, при этом пленка покрывает и прижимает сетки к стеклу. Оставшаяся на стекле вода, осторожно с угла, убирается пропускной бумагой. Пленка вокруг стекла подрезается, стекло переносится в сухую стерильную чашку и сушится в термостате (30—40 минут) до полного высыхания пленки. После высыхания пленки сеточки с обратной стороны стекла нумеруются восковым карандашом и хранятся в чашке до употребления.

Для получения хороших пленок вся посуда должна быть абсолютно чистой, обезжиренной и стерильной. Дистиллированная вода фильтруется

и стерилизуется. 2%-ный раствор нитроклетчатки в амилацетате готовится в небольших количествах (до 10,0 мл), фильтруется и хранится в посуде, обеспечивающей постоянную концентрацию раствора.

Культура микробов для исследования в электронном микроскопе берется осторожно платиновой петлей с поверхности колонии так, чтобы не захватить питательного агара, и размешивается в капле дестиллированной воды на обезжиренном предметном стекле до появления незначительной мутности. Капля микробной взвеси с предметного стекла переносится пипеткой на подложку. После высушивания в термостате в течение 20—40 минут препарат снимается со стекла при помощи специального шпателя, сделанного из кусочка безопасной бритвы, укрепленной в держателе из жести. Пленка вокруг сеточки аккуратно подрезается острием шпателя и препарат этим же шпателем переносится в цилиндрический колпачок объектодержателя. В колпачок вставляется патрон, и препарат в таком виде, после контроля на целость пленки под малым увеличением оптического микроскопа (окулятор 15×), готов для исследования в электронном микроскопе.

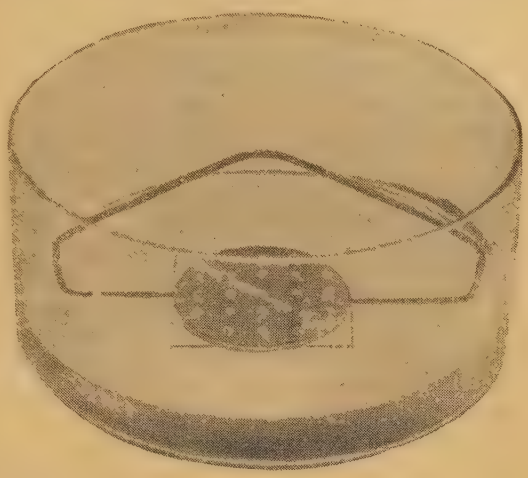


Рис. 2

В отличие от предложенного Криссом [1] способа капельного диализа, мы применяем способ диализа на мембранных ультрафильтрах. Для этого

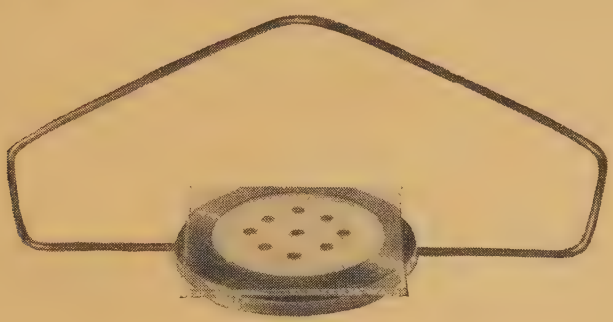


Рис. 3

прокипяченный ультрафильтр предварительно укладывается на стекло под сетки (рис. 3). Далее, наносится пленка. Высушенный ультрафильтр с подложками переносится на поверхность стерильной дестиллированной воды в кристаллизатор. На каждую подложку наносится пастеровской пипеткой по одной-две капли взвеси диализируемых культур. Чашка накрывается крышкой и оставляется на время при температуре, соответствующей условиям опыта. Для предварительного исследования или для контроля диализа можно взять платиновой петлей часть диализируемой капли культуры и перенести на чистую подложку, высушить и затем рассматривать в электронном микроскопе.

Во избежание затекания диализируемой капли в дестиллированную воду через край не следует класть более пяти-семи сеток и располагать

их слишком близко к краю ультрафильтра. После окончания диализа ультрафильтр с подложками снимается с поверхности воды пинцетом, переносится опять в чашку и сушится в термостате. Высушенные препараты исследуются в электронном микроскопе.

Диализируемая среда в течение времени диализа очищается от солей и белков. При этом вполне естественно, что микробы все это время (18—20 часов) будут находиться в постепенно изменяющихся и неблагоприятных условиях и при окончании диализа окажутся в дестиллированной воде. Это не противоречит фактам, указанным в статье Крисса, но совершенно противоречит его выводам. Поэтому мы считаем, что изучение онтогенеза микробов в процессе диализа, как это утверждает Крисс, не может иметь места в действительности. Крисс не приводит своих наблюдений над развитием микробов в условиях диализа, а лишь упоминает об этом. Его данные в этом направлении неубедительны.

Более надежным способом изучения роста и развития микробов, процесса взаимодействия микробов с антибиотиками, фитонцидами, фагами, симбиоза их с вирусами и взаимодействия с другими факторами внешней среды является способ выращивания исследуемых культур непосредственно на подложках в чашках с агаром.

В отличие от способа Покотинского, Кривиского и Лузаниновой мы рекомендуем более простой способ. Заготовленные и высушенные, как выше описано для анализа, ультрафильтры с подложками стерилизуются 15 минут в парах формалина (так как, несмотря на асептические предосторожности, избегнуть загрязнения пленок посторонней микрофлорой все же трудно), затем переносятся в стерильную чашку с крышкой и ставятся в термостат для освобождения от следов адсорбированного формалина. На следующий день подготовленные таким образом подложки на ультрафильтрах кладутся на поверхность агара уменьшенной плотности.

Посев делается с таким расчетом, чтобы на подложки попали единичные клетки микробов. После выращивания в термостате препараты снимаются шпателем поштучно или все сразу с ультрафильтром, сушатся в термостате 30—40 минут и уже совершенно сухие исследуются в электронном микроскопе.

Препараты, заготовленные как на стеклах, так и на ультрафильтрах, могут быть использованы для напыления металлами в вакуумном аппарате. Для этой цели стекло или ультрафильтр с готовыми препаратами укрепляется непосредственно над диафрагмой опылителя и подвергается напылению.

Выводы

Предложенный и описанный в статье способ изготовления бактериологических препаратов для электронной микроскопии имеет преимущества перед уже применяемыми на практике, так как дает возможность быстрее и проще получить сразу до 20 подложек на стекле или на ультрафильтре.

Как на стекле, так и на ультрафильтре препараты могут быть использованы для изучения в электронном микроскопе непосредственно или подвергнуться напылению по общепринятому способу.

Для наблюдения развития микробов в зависимости от условий их роста делается посев на ультрафильтры с подложками, уложенными на поверхность агара в чашках.

Диализ микробных культур производится на подложках с ультрафильтрами, плавающими на поверхности дестиллированной воды.

Электроннооптическая
лаборатория Военно-медицинской академии
им. С. М. Кирова

Получено 29.IV.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крисс А., Бирюзова В. и Золковер А. Капельный диализ — метод приготовления биологических препаратов для электронной микроскопии. Микробиология, XVII, 484, 1948.

МЕТОД ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ИЗ СОЛЕВЫХ РАСТВОРОВ

Г. И. Абелев и Н. Н. Соловьев

В настоящее время приготовление препарата для электронного микроскопа включает как необходимый момент проведение объекта через дестиллированную воду для очистки препарата от солей [1, 2]. Однако обработка объекта дестиллированной водой в ряде случаев недопустима. Дестиллированная вода глубоко травмирует клетки (эритроциты, лейкоциты), искажает картины лизирующихся бактерий, не позволяет изучить агглютинацию или адсорбцию, которые протекают в солевых растворах.

Применение фиксаторов значительно усложняет методику и увеличивает количество артефактов.

Метод Покотинского, Кривиского и Лузяниновой позволяет изучать бактерии без обработки их дестиллированной водой, но он приложим только к растущим, размножающимся колониям.

Нами разработан простой метод приготовления препаратов из солевой среды непосредственно без предварительной фиксации. Метод основан на принципе ультрафильтрации. Солевой раствор всасывается через пленку мембранным фильтром, в то время как объект задерживается на пленке.

Описание метода

Суспензия объекта в 0,5%-ном или 0,85%-ном растворе NaCl наливается в чашку Петри или в небольшой бюкс (в зависимости от количества материала). На поверхность жидкости наносится капля 1,5% коллодия в амилацетате. На образовавшуюся пленку накладывается несколько сеточек и поверх них сухой мембранный фильтр (согласно технике, предложенной Покотинским и соавторами). Нами употреблялись мембранные фильтры № 3.

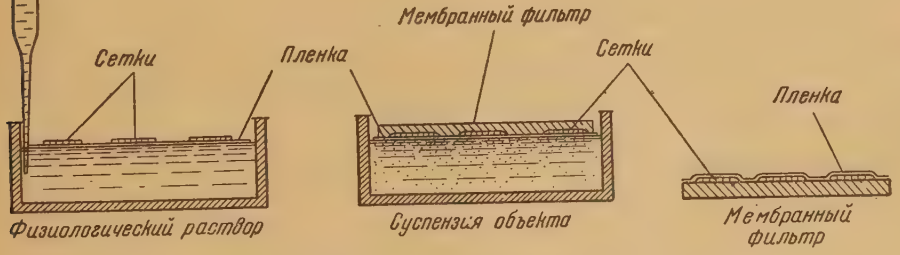


Рис. 1. Приготовление препарата (объяснения в тексте)

После того как пятна жидкости проступят на фильтре (контакт с жидкостью установлен, но фильтр еще не насыщен), его подхватывают пинцетом и снимают с поверхности жидкости. Пленка с сетками прочно фиксируется на фильтре, на пленке остается тонкий слой исследуемой суспензии.

Во избежание подсушивания фильтр быстро переносят в чашку Петри и накрывают ее крышкой. (Для более быстрого всасывания фильтр следует положить на другой, сухой фильтр). Жидкость, находящаяся на пленке, всасывается в течение одной — двух минут, а взвешенные частицы задерживаются на пленке. Препараты напыляются прямо на фильтре после его высыхания или переносятся на стекло, на котором производится напыление.

Если для исследуемого объекта нежелательно действие амилацетата во время приготовления пленки, то пленка формируется не на суспензии, а предварительно на чистом физиологическом растворе, а затем раствор из-под пленки отсасывается пастеровской пипеткой и заменяется свежим. Эта процедура

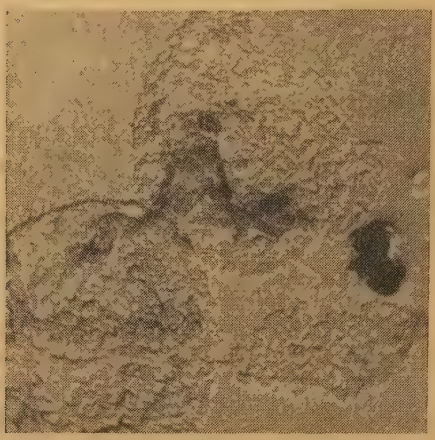


Рис. 2. Стромы эритроцитов кролика из 0,85% NaCl (напыление хромом)

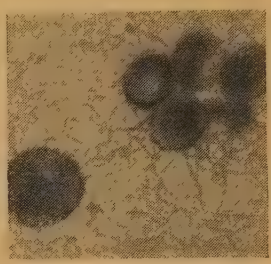


Рис. 3. Лизис Micrococcus lysodeikt. из 0,25%NaCl

повторяется два-три раза. Затем под пленку вводится суспензия и приготовляются препараты, как это описано выше.

Приготовление препарата показано на рис. 1.

Выводы

Описывается простой метод, позволяющий получить пленки хорошего качества.

При приготовлении препаратов этим способом суспензию объекта надо готовить более густую, чем обычным методом. Для бактерий оптимальная концентрация была 5—10 млрд/мл.

Институт эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалея
Академии медицинских наук СССР

Получено 1.IV.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крисс А. Е., Бирюзова В. И. и Золковер А. М. Капельный диализ — метод приготовления биологических препаратов для электронной микроскопии. Микробиология, **XVII**, 484, 1948.
2. Heinmets F. Studies with the electron microscope on the interaction of red cells and influenza virus. J. Bact., 55, 823, 1948.

ЭЛЕКТРОНОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФИТОПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ

А. Е. Гроценко

До недавнего времени о существовании вирусов можно было судить главным образом по тем изменениям, которые они, вызывали у пораженного растительного или животного организма. Удалось установить, что вирусы дают специфические серологические реакции. Вирусы были получены в очищенном виде, был изучен химический состав некоторых из них [2, 6].

На основании реакции зараженного вирусом организма и строилась главным образом диагностика вирусных заболеваний растений. При поражении растений вирусами часто появляется мозаичная расцветка листьев, цветов и других органов. Иногда мозаика сопровождается некрозами, общим хлорозом. Нередко мозаичные растения приостанавливаются в росте. В отдельных случаях наблюдается общий хлороз, кустистость, недоразвитость всего растения или отдельных его органов — листьев, цветов. Бывают случаи деформации отдельных органов растения.

Казалось бы, что такая диагностика вирусных болезней по симптомам больного растения очень удобна. Обычно эти симптомы бывают выражены достаточно ясно и в правильности диагноза не может быть сомнений.

Однако имеется ряд случаев, когда пораженное тем или иным вирусом растение не дает видимых признаков заболевания.

Кроме того, в некоторых случаях симптомы функциональных заболеваний очень сходны с симптомами вирусных заболеваний, например при дефиците некоторых элементов питания, при влияниях определенных температур и т. д. Такое сходство признаков непаразитарных заболеваний с вирусными послужило причиной для отрицания некоторыми фитопатологами вирусов вообще.

Поэтому нельзя делать заключения о вирусной природе заболеваний только по внешним признакам, появляющимся у больного растения. Для более точного определения вирусных заболеваний растений применяются серологические реакции. Они позволили уже более точно относить соответствующие заболевания к вирусным. Но серологические реакции затруднительны в связи со сложностью получения сывороток и рядом других причин.

Для подтверждения вирусной природы заболевания часто применяется также метод искусственного заражения. Заражение производится натиранием листьев здоровых растений соком или водной вытяжкой, полученными от больных растений, или прививкой к здоровым растениям кусочков ткани от больного растения, или заражением путем переноса с больных растений различных сосущих и грызущих насекомых на здоровые растения.

Метод искусственного заражения наиболее точный, но его главным недостатком является то, что результат заражения проявляется в лучшем случае через 8—10 дней, а иногда его нужно ждать месяцы и даже годы.

С изобретением электронного микроскопа явилась возможность изыскать более быстрый метод для диагностики вирусных болезней.

Изучение вирусов при помощи электронного микроскопа началось не более 12 лет назад. За этот короткий промежуток времени удалось

подтвердить полученные другими методами данные о палочковидной и шаровидной форме некоторых вирусов [2]. Было показано, что некоторые фитопатогенные вирусы имеют не палочковидную форму, как, например, вирус табачной мозаики, а нитевидную — вирус мозаики орхидей [8, 10]. Электронографии подтвердили также строение вирусных кристаллов из вирусных частиц [6].

Разработанная Рыжковым систематика вирусов [4] в значительной своей части основывается на форме и размерах вирусных частиц. Наиболее точно установить как форму, так и размеры этих частиц в настоящее время можно только при помощи электронного микроскопа.

В литературе имеется также указание на возможность применения электронного микроскопа для диагностики вирусных заболеваний растений [7, 8]. Эта диагностика основывается на обнаружении вирусных частиц в водных вытяжках из тканей больных растений или в гутационной воде [9].

В ряде работ [7, 8, 10, 11, 12, 13] приводятся фотографии и описания некоторых вирусов, изучавшихся под электронным микроскопом.

В настоящее время нашей промышленностью выпускается несколько типов электронных микроскопов, пригодных для вирусологических работ.

Мы сделали попытку применить электронный микроскоп для выяснения вирусной природы некоторых заболеваний растений.

При наших работах было исследовано 13 разных видов растений с внешними признаками, свойственными вирусным болезням, описанным в литературе. Всего получено больше сотни электронографий как больных, так и здоровых растений. Вирусные частицы были обнаружены у шести видов растений. Три из них относятся к семейству пасленовых, два к лилейным и одно к тыквенным.

Джонсон (Johnson [9]) не во всех случаях вирусных заболеваний находил вирусные частицы. У большинства видов из семейства пасленовых им обнаруживались палочки, свойственные вирусу табачной мозаики. Но он встречал и нитевидные формы вирусов (Amaryllis). Это показывает, что техника приготовления препаратов для электронного микроскопа все еще нуждается в дальнейшем усовершенствовании.

Сама работа с электронным микроскопом не является особенно сложной. Особое внимание требуется уделить приготовлению препаратов. Существует несколько способов приготовления препаратов для электронного микроскопа [7, 8]. Мы в нашей лаборатории пользовались следующим способом. Лист или другой какой-либо орган исследуемого растения растирался в ступке с чистым кварцевым песком. К растертой массе добавлялось несколько миллилитров воды. Вся масса переносилась в центрифужную пробирку и подвергалась центрифугированию в течение 20 минут при 3 тысячах оборотов в минуту. Несколько капель просветленной таким образом взвеси помещались на коллоидную пленку для диализа. Диализ продолжается 20—24 часа (время диализа можно сократить до 6—7 часов).

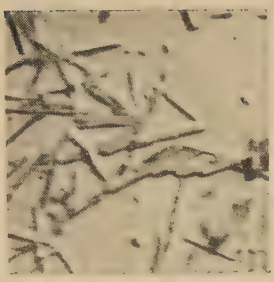
Небольшая капля диализата, взятая платиновой петлей, помещалась на специальную сетку с коллодиевой пленкой. После высыхания препарат подвергался напылению хромом и просматривался.

Можно готовить препараты и без диализа, но в этом случае в препарате будет больше посторонних частиц, затрудняющих распознавание вирусов. Для приготовления препаратов в ряде случаев пригодны и капли гутационной воды, которые обычно содержат в себе вирусные частицы.

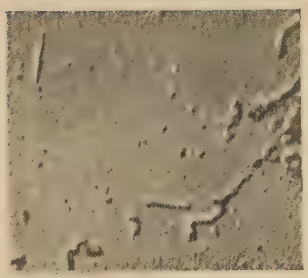
Наши работы мы начали с вируса табачной мозаики, уже хорошо изученного до нас [7].

На рис. 1 видны однообразные палочковидные частицы вируса. При просмотре препаратов, полученных из очищенного, кристаллического вируса табачной мозаики, видны такие же палочки (рис. 2). На фотографии видны палочковидные частицы, соединяющиеся в определенном по-

1

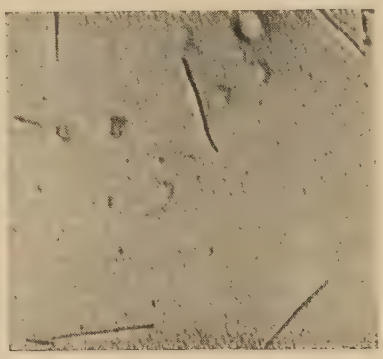


2



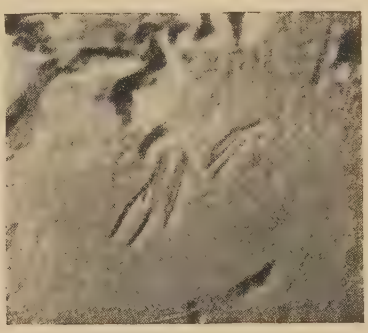
3

4

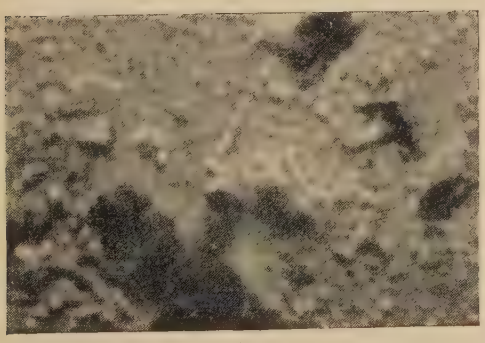


5

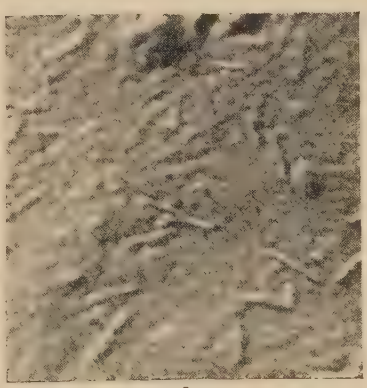
6



7



9



8

Рис. 1. Вирус мозаики табака из сока больного листа
Рис. 2. Вирус. мозаики табака, очищенный кристаллизацией
Рис. 3. Вирус белой мозаики огурцов
Рис. 4. Вирус зеленой мозаики огурцов
Рис. 5. Вирус мозаики лилий
Рис. 6. Вирус морщинистой мозаики картофеля
Рис. 7. Вирус мозаики томатов
Рис. 8, 9. Вирус мозаики огурцов с выраженной структурой вирусных частиц
Рис. 1—7 ув. 18 000х; рис. 8—9 — 35 000х

рядке. В соке из листьев здорового табака подобные палочки никем не были обнаружены.

Интересным был случай обнаружения вируса огуречной мозаики. К нам в лабораторию поступили листья огурца с резко очерченными, совершенно белыми участками листовой ткани между жилок. Этой болезнью было поражено много растений в оранжерее. По внешнему виду больных растений можно было предполагать заболевание, вызванное недостатком какого-либо из микроэлементов. Из этих листьев были приготовлены препараты для электронного микроскопа. На электронографии (рис. 3) совершенно ясно видны палочки, сходные с вирусными частицами мозаики табака. Одновременно были исследованы и листья огурцов с признаком зеленой мозаики. В этом случае получены такие же палочки (рис. 4).

В листьях здорового огурца подобных частиц не наблюдалось. Одновременно соком этих же больных листьев было произведено заражение сеянцев огурцов. Через 13 дней на них появились типичные признаки болезни. Таким образом была подтверждена ее вирусная природа. В дальнейшем это заболевание было изучено более подробно. Электронный микроскоп позволил установить в течение суток вирусную природу заболевания огурцов.

Таким же путем были исследованы листья мозаичной лилии (Lilium Harrisii). При этом заболевании на листьях образуются беспорядочно расположенные, продолговатые, светлоокрашенные полоски. Позднее на светлых местах появляются некротические пятна. По внешним признакам проявления заболевание похоже на мозаику, вызванную вирусом. Одна из вирусных мозаик у лилий вызывается вирусом огуречной мозаики (Cucumis virus I по классификации K. Smith или Aphidopholus cucumeris по классификации Рыжкова), который заражает и табак. Нашим вирусом заразить табак и огурцы не удалось, следовательно, это был другой вирус.

Мы приготовили препарат и получили электронографию (рис. 5). Здесь отчетливо видны длинные, изогнутые палочковидные частицы, резко отличные от полученного нами на фотографии вируса огуречной мозаики и от вируса огуречной мозаики Cucumis virus I, приведенной в работе Sill [11]. В литературе мы не встретили электронографий подобного вида вируса у лилии. В данном случае нами пока еще не проведено детальное изучение вируса, вызывающего описанную выше мозаику у лилии, но мы полагаем, что на основании имеющихся литературных данных о формах вирусных частиц у других растений (табак, картофель, томат, орхидеи и др.) можно считать, что наблюдаемые нами палочковидные частицы являются вирусными частицами.

При помощи электронного микроскопа было установлено наличие вирусных частиц в луке, пораженном мозаикой. Эти частицы резко отличаются от описанных выше.

Под электронным микроскопом исследовались также листья картофеля, пораженного морщинистой мозаикой. На листьях наблюдаются расплывчатые, бледнозеленые, слабовыраженные пятна. Зеленые участки листа несколько выпуклы, что делает его морщинистым. Больные кусты по сравнению со здоровыми отстают в росте.

На электронографии видны длинные, нитевидные частицы, изогнутые и искривленные в большей степени и большей длины, чем вирусные частицы, обнаруженные в листьях мозаичных лилий (рис. 6). Эти частицы сходны с частицами X вируса картофеля (Solanophilus tuberosi по Рыжкову [4]), представленными на фотографии в работе Takahashi [12]. Автор этой работы указывает, что вирусные частицы обнаружены им в картофеле, пораженном кольцевой пятнистостью.

Такому же исследованию были подвергнуты листья мозаичного томата. Внешне мозаичность проявлялась наличием на листовой пластинке

беспорядочно расположенных бледнозеленых пятен. Кусты, пораженные этой мозаикой, имеют угнетенный вид.

При фотографировании под электронным микроскопом водной вытяжки из листьев пораженного мозаикой куста получены палочки, сходные с вирусом табачной мозаики (рис. 7).

Были попытки обнаружить вирусные частицы у тюльпана, пораженного полосатостью, мозаичного георгина, мозаичного гладиолуса, сирени, пораженной кольцевой мозаикой, мозаичной малины, антуриума и цинерарии, пораженной желтухой. Ни в одном случае каких-либо частиц, которые можно было бы принять за вирусы, не найдено.

Таким образом, имеющиеся в литературе сообщения и наши данные показывают, что электронный микроскоп может быть применен для диагностики вирусных заболеваний растений. Но при этом нужно отметить, что методика этих исследований разработана еще недостаточно и не все вирусы удается легко обнаружить под электронным микроскопом. Поэтому требуется дальнейшее усовершенствование методики электронографических исследований. Рыжков [4] относит вирусы к вновь созданному им типу Iwanowskya, который он делит на пять классов. Эти классы в свою очередь делятся на восемь порядков, порядки на семейства и т. д.

В основу своей систематики Рыжков положил свойства вирусов, обнаруживаемые как в опыте, так и в наблюдениях. Главнейшими из этих свойств являются: форма и размер вирусных частиц, способность их давать кристаллы, химический состав вирусов, питающий их организм, отношение к температуре и т. п.

Из этого следует, что для того, чтобы определить систематическое положение того или иного вируса и отнести его к соответствующей таксономической единице, необходимо знать форму и размеры изучаемого вируса. А это можно сделать проще и быстрее при помощи электронного микроскопа.

Таким образом, электронный микроскоп и для определения вирусов необходим так же, как оптический микроскоп для определения грибов и бактерий.

В некоторых работах [1] имеются сообщения о том, что палочковидные вирусные частицы, а также бактериофаги имеют определенную структуру и составлены из более мелких частиц. На фотографиях, приведенных в этих работах, видна эта структура, представляющаяся в виде коротких ниток бус.

При наших исследованиях под электронным микроскопом белой и зеленой мозаик огурцов также обращает на себя внимание определенная структура палочковидных вирусных частиц (рис. 8 и 9), причем такие электронографии не являются случайными. На фотографиях видны палочки, состоящие из шариков, расположенных в одних случаях достаточно плотно, а в других очень рыхло.

Анализа этого явления мы не даем, необходимо его дальнейшее исследование.

Эта работа выполнена под руководством проф. В. Л. Рыжкова. Электронографии получены при участии А. М. Залковер.

Выводы

На основании приведенных электронографических исследований вирусных болезней 13 видов растений подтверждается принципиальная возможность применения электронного микроскопа для диагностики вирусных заболеваний растений.

Применение электронного микроскопа значительно облегчает определение вирусов и установление их в той или иной таксономической группе.

Электронная микроскопия позволяет также вникнуть более глубоко в строение и свойства вирусов.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 21.1.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крисс А. Е. и Тихоненко А. С. Строение корпускула бактериофага. ДАН СССР, 81, № 2, 421, 1952.
2. Рыжков В. Л. Основы учения о вирусных болезнях растений. Изд. АН СССР, 1944.
3. Рыжков В. Л. Электронная микроскопия доклеточных форм жизни. Природа, 9, 48, 1951.
4. Рыжков В. Л. Систематика вирусов в современной литературе. Микробиология, XXI, 460, 1952.
5. Сушкин Н. Г. Электронный микроскоп. Гос. изд-во техн. лит., 1949.
6. Bawden F. C. Plant viruses and viruses diseases, 1950.
7. De Bruyn M., Bruyn O., Beijer J. J. and Van Slogteren E. Diagnosis of plant disease by electron-microscopy, Antonie van Loeuwenchoek, J. Microb., 17, 189, 1951.
8. Gold A. H. and Gensen D. D. An electron microscope study of Cymbidium mosaic virus. Amer. J. Bot., 38, 577, 1951.
9. Johnson J. Virus particles in various plant species and tissues. Phytopath., 41, 78, 1915.
10. Newton N. and Rosbery D. W. Electron-microscope studies of a new orchid virus complex. Phytopath., 42, 79, 1952.
11. Sill W. H., Burgen Jy. W. C., Stahmann M. A. and Walken J. C. Electron microscopy of cucumber virus I. Phytopath., 42, 8, 1952.
12. Takahashi W. N. and Rawlins T. E. An electron microscope study of two strains of potato X virus. Amer. J. Bot., 33, 740, 1942.
13. Williams R. C. and Steer R. L. Electron microscopie observations on the unito of length of the tabacco mosaic virus. J. Amer. Chem. Soc., 73, 2057, 1951.

О ПРИГОДНОСТИ ДУРМАНА (DATURA STROMONIUM) ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИТРА ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ

В. А. Смирнова

Едва ли можно переоценить значение растений-индикаторов в вирусологической практике. Все работы по вирусам растений, связанные с определением титра вируса, его активности, скорости накопления и пр., проводятся при помощи растений-индикаторов. Доступный и чувствительный индикатор ускоряет темп работы и повышает ее достоверность.

Впервые для количественного учета титра вируса табачной мозаики (ВТМ) была взята Холмсом в 1929 г. Nicotiana glutinosa [1]. Теперь это наиболее распространенный индикатор на ВТМ и у нас в СССР и за границей.

N. glutinosa — южное растение, выращивать его в наших условиях довольно сложно. Это растение легко снижает чувствительность к ВТМ как при старении, так и при незначительном ухудшении режима. Одно растение N. glutinosa дает пять-шесть пригодных для работы листьев.

Некротическую реакцию на ВТМ дают некоторые сорта фасоли, но так как чувствительными являются только первые два листа, то для широких работ с этим объектом нужна большая площадь и непрерывные подсевы.

Используют как индикатор гибрид N. glutinosa × N. tabacum, характеризующийся унаследованной от N. glutinosa способностью давать некрозы без общего заражения, но он также имеет ряд недостатков: слишком крупные листья, необходимость выращивать рассадой и др.

Существуют работы (Gendron [2], Manil [3], Pfankuch [4] и др.), в которых для определения титра ВТМ применялся дурман (Datura stromonium), однако как индикатор это растение мало популярно.

Дурман — сорняк, распространенный на юге СССР и встречающийся в Московской области; он прекрасно размножается здесь самосевом, давая всходы ранней весной, под снег уходит с неопавшими и даже не пожелтевшими листьями, крайне нетребователен в культуре и устойчив к пониженной температуре. Куст дурмана продуцирует большое число однородных листьев и быстро восстанавливает их после обрывания.

Все эти качества не вызывали сомнения в его преимуществе перед N. glutinosa, но, чтобы с уверенностью пользоваться им как индикатором, надо было проверить его реактивные свойства, что мы и сделали, сравнивая его с N. glutinosa.

Часть опытов была поставлена специально с этой целью, часть проводилась попутно, т. е. в текущих экспериментах, где основным индикатором служила Nicotiana glutinosa, для сравнения бралась Datura stromonium.

Обычно в вирусологической практике инокуляцию листьев проводят на самом растении. В нашей лаборатории, по предложению Рыжкова, мы работаем с изолированными листьями, что значительно упрощает методику.

Срезанные листья после заражения мы закладываем во влажную камеру, обычно эксикатор, подвешивая рядами и следя за тем, чтобы они не касались друг друга. Этот способ имеет еще то преимущество, что влажную камеру легко поместить в оптимальную для развития некрозов температуру.

В описываемых опытах сравниваемые листья N. glutinosa и Datura stromonium всегда закладывались вместе в один эксикатор.

Предварительный опыт для проверки чувствительности испытываемых индикаторов был поставлен следующим образом: приблизительно равные по размерам листья N. glutinosa и дурмана заражались соком больного табака в разных разведениях (табл. 1).

Таблица 1

Число некрозов на целых листьях, зараженных соком больного табака при разных разведениях ($\frac{\text{N. glutinosa}}{\text{D. stromonium}}$)

Дата	Разведения	Общее число некрозов	Число листьев	Среднее число некрозов на 1 лист
26.VI 1951 г.	1:100	$\frac{110}{522}$	$\frac{6}{6}$	$\frac{18}{87}$
	1:1 000	$\frac{59}{217}$	$\frac{5}{5}$	$\frac{12}{43}$
	1:10 000	$\frac{22}{40}$	$\frac{5}{5}$	$\frac{4}{8}$

Примечание: На табл. 1, как и на всех последующих, в числителе приводятся числа некрозов на N. glutinosa, в знаменателе — на дурмане.

При всех трех разведениях дурман оказался значительно чувствительнее, чем N. glutinosa. Необходимо отметить, что созревание некрозов на дурмане наступает на несколько часов позже, чем на N. glutinosa. Имея в виду охарактеризовать дурман на чувствительность к ВТМ в условиях, близких к условиям открытого грунта, мы провели опыты в самый жаркий период лета и осенью при пониженной температуре на растениях, выращиваемых в вегетационном домике.

В середине июля температура в вегетационном домике доходила днем до 40°. Опыт был заложен 15. VII. Сорванные листья после инокуляции содержались во влажной камере в лаборатории, где максимальная температура была 35° и не опускалась ниже 24°.

Таблица 2

Число некрозов, продуцируемых $\frac{\text{N. glutinosa}}{\text{D. stromonium}}$ в жаркий период лета и осенью

Дата	Разведение сока на половинках листьев		Среднее число некрозов на листе		Число листьев в опыте
	левая	правая	левая половина	правая половина	
15.VII 1951 г.	1:500	1:750	$\frac{7}{2,5}$	$\frac{6}{2,5}$	$\frac{18}{17}$
	1:500	1:1000	$\frac{13}{3,5}$	$\frac{6}{2}$	$\frac{16}{16}$
24.IX 1951 г.	Исходный сок	1:1	$\frac{4,0}{200}$	$\frac{3,2}{170}$	$\frac{10}{10}$
	То же	1:2	$\frac{3,7}{210}$	$\frac{2,4}{165}$	$\frac{10}{10}$

В опыте от 15. VII (табл. 2) при всех трех разведениях дурман дал некрозов приблизительно в три раза меньше, чем N. glutinosa, однако и последняя образовала небольшое их число.

Второй опыт мы поставили в конце сентября, когда температура ночью снижалась до 4°. Эксикатор с инокулированными листьями во время созревания некрозов находился при комнатной температуре 18—20°. В расчете на пониженную чувствительность индикаторов сок больного табака был взят без разведения, в разведении 1 : 1 и 1 : 2.

В условиях данного опыта N. glutinosa образовала 2—4 некроза на половинку листа, дурман же — до 200, т. е. в 50 раз больше. На табл. 3 и 4 в другой связи представлены большие количества некрозов, продуцируемые дурманом, растущим в вегетационном домике в октябре.

В табл. 3 сведены результаты ряда опытов, в которых проверялась чувствительность индикаторов к различным концентрациям ВТМ. Разведения брались от 1 : 100 до 1 : 500 000.

Таблица 3

Число некрозов на $\frac{\text{N. glutinosa}}{\text{Datura stromonium}}$ при различных разведениях сока больного табака

Дата	Разведение сока на половинках листьев		Среднее число некрозов на половинке листа		Число листьев в опыте
	левых	правых	лево	правой	
1952 г. 26.VII	1 : 100	1 : 120	7/23	11/18	18/23
	1 : 100	1 : 150	2,8/15	3,3/9	21/23
1951 г. 29.IX	1 : 100	1 : 500	3,3/190	2/140	10/10
	1 : 500	1 : 750	0,6/156	0,7/96	10/10
9.X	1 : 1 000	1 : 1 200	2/5,6	1,5/5,4	4/12
	1 : 1 000	1 : 1 500	0,6/6	1/3,5	5/14
10.X	1 : 1 000	1 : 10 000	0/14	0/2,5	3/9
	1 : 1 000	1 : 100 000	3,3/10,5	0,3/0,8	3/10
	1 : 1 000	1 : 500 000	0,6/14,3	0/0,1	6/8

Во всех случаях дурман оказался чувствительнее. Иногда он образовывал количества некрозов, в десятки раз превосходящие таковые у N. glutinosa.

Почти во всех наших опытах N. glutinosa очень слабо реагирует на сок больного табака в разведении 1 : 1000, в то время как дурман дает вполне четкий ответ при разведении 1 : 10 000 и только концентрация 1 : 500 000 мл уже не улавливается.

Интересен опыт от 26. VII (табл. 3). Здесь дурман на 23 листьях дал отношения в числах некрозов, весьма близкие к действительному разве-

дению сока. А именно: при сравнении сока, разведенного 1 : 100 и 1 : 120, отношения чисел некрозов на половинках листьев дурмана равны 1 : 1,3; при разведении сока 1 : 100 и 1 : 150 числа некрозов относятся как 1 : 1,6.

N. glutinosa в этом опыте такой закономерности не показала. Высокая чувствительность дурмана оказалась особенно ценной при отборе растений, скрыто несущих ВТМ.

Для проверки чувствительности листьев индикатора левые половинки заражались соком явно больного табака, правые — соком испытуемого растения (табл. 4).

Таблица 4

Проверка содержания ВТМ в исследуемых растениях

Дата	№ испытуемых растений	Число некрозов на половинках листьев			
		Nicotiana glutinosa от сока		Datura stromonium от сока	
		явно больного табака	испытуемого растения	явно больного табака	испытуемого растения
1952 г.					
9.IX	1	97	0	91	29
		72	0	270	37
		67	8	2000	176
31.VII	2	15	0	110	17
		11	0		
		45	4		
22.IX	3	0	0	172	140
		2	1	300	150
				500	50
22.IX	4	0	0	140	45
		10	0	130	7
				120	9

Как видно из табл. 4, N. glutinosa, давая большие количества некроза на левых половинках (контрольных), образует ничтожно мало некрозов от сока испытуемых растений, а чаще не образует их вовсе.

Основываясь на отсутствии некрозов на N. glutinosa, мы должны были бы признать такие растения здоровыми, хотя в действительности они больны, как указывают некрозы на дурмане.

Подводя итоги нашим экспериментальным данным, мы отмечаем, что дурман является весьма чувствительным индикатором на ВТМ, лучшим, чем общепринятая N. glutinosa. Доступность посевного материала, легкость выращивания дурмана из семян в открытом грунте позволяют широко пользоваться им как индикатором на ВТМ не только в специальных вирусологических лабораториях, но и работникам, не имеющим возможности выводить в теплицах такие специфические растения, как N. glutinosa или гибрид N. glutinosa × N. tabacum.

Выводы

В наших условиях дурман как индикатор на вирус табачной мозаики превосходит по многим показателям классический тест-объект — N. giutinosa.

1. При равных условиях он на единицу площади продуцирует большее число некрозов, чем N. glutinosa, т. е., является чувствительнее последней.

2. Некрозы хорошо развиваются на листьях дурмана, растущего при пониженной температуре.

3. Вегетационный период дурмана длиннее, облиственность богаче, регенерация листьев значительно быстрее, чем у N. glutinosa.

4. В противоположность последней дурман очень прост в культуре.

Мы рекомендуем использовать в вирусологической практике дурман (Datura stromonium) как индикатор на ВТМ.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 31.XII.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рыжков В. Л. Основы учения о вирусных болезнях растений. 1944.
2. Gendron J. Action du lait de Coco et d'un extrait de Coprah sur la multiplication du virus de la mozaique du tabac et du virus X de la pomme de terre chez le tabac. C. R. Acad. Sci., 230. No. 22, 1974, 1950.
3. P. Manil. Inhibition de virus phytopathologènes par des extraits de plantes. C. r. Soc. Biol., CXLIII. No. 1—2, 101, 1949.
4. Pfannkuch E. Die Bedeutung unserer Kenntnisse von Aufbau und Eigenschaften der Virusproteine für eine Chemotherapie der Viruskrankheiten. Mitt. biol. Anst., 67, 46, 1943. Реферат. The Review of Applied Micology, XXIX, p. 3, 138, 1950.

ПАТОГЕННОСТЬ ГРИБА ALTERNARIA В ОТНОШЕНИИ ВСХОДОВ ХВОЙНЫХ ПОРОД В ТАЕЖНОЙ ЗОНЕ

И. И. Журавлев и *Т. П. Скабичевская*

Грибы из рода Alternaria, как известно, вызывают различные заболевания сельскохозяйственных культур, но могут также быть возбудителями болезни «полегания» сеянцев древесных пород. Хотя это было отмечено в литературе уже давно, ни видовой состав, ни патогенность, ни значение этого гриба в питомниках древесных пород не были до сего времени в достаточной мере изучены.

Литературные данные о патогенности гриба Alternaria весьма ограничены и противоречивы. Так, Карпова-Бенуа [5], например, установила, что в условиях питомника потери сеянцев сосны и ели от полегания, вызываемого грибом Alternaria, не превышает 10%, а Орлова [6] считает, что эти потери могут быть не меньше тех, которые вызывает гриб Fusarium, т. е. могут достигать 90%.

Другие авторы (Ванин [1]; Журавлев и Соколов [4]) отмечают лишь, что гриб Alternaria менее вредоносен, чем гриб Fusarium.

Следует отметить, что приведенные данные относятся к Alternaria tenuis Nees или вообще к грибу Alternaria.

Практика борьбы с полеганием сеянцев в питомниках показала, что неясность биологии и патогенности этого гриба затрудняет выработку средств борьбы с ним. В частности, это выражается в отсутствии сведений об эффективных фунгисидах для дезинфекции семян, зараженных грибом Alternaria. С другой стороны, неясен и сам вопрос о целесообразности дезинфекции семян в этих случаях, так как, если данные Карповой-Бенуа верны, то необходимость этой меры следует пересмотреть.

Таким образом, вопрос о патогенности гриба Alternaria является ключом к ряду практических выводов.

В связи с этим нами были проведены соответствующие исследования по этому вопросу.

Методика исследований

В качестве объектов исследований нами были применены выделенные в чистую культуру (моноспоровую), виды Alternaria, обнаруженные при фитопатологических экспертизах семян и сеянцев, проводившихся на Ленинградской районной контрольной станции лесных семян, а именно: A. iridicola E. et E., oleracea Milbr., A. peponis Yat., A. radicina M. D. et E., A. raphani Wilt и A. tenuis Nees. и два вида, выделенные из сельскохозяйственных культур,— A. phaseolicola Yat. и A. humicola Oud.

Патогенность этих видов Alternaria исследовалась нами для сеянцев сосны (Pinus silvestris L.), ели (Picea exelsa L.) и лиственницы Сукачева (Larix Sukaczewii). Исследования велись в течение двух лет (1951 и 1952 гг). Необходимые для этого опыты проводились в питомнике Карташевского лесничества (Сиверский опытный лесхоз) и в теплице Центрального научно-исследовательского института лесного хозяйства (ЦНИИЛХ). Лабораторные исследования и анализы проводились на Ленинградской районной контрольной станции лесных семян.

Проведенные нами исследования охватили следующие вопросы: значение источника инфекции (семена, почва); влияние почвенных разно-

стей на интенсивность развития болезни; сравнительная патогенность видов Alternaria; сравнительная патогенность Alternaria и Fusarium; эффективные фунгисиды для дезинфекции семян, зараженных грибом Alternaria.

Значение источника инфекции на интенсивность полегания сеянцев изучалось в опытах с посевом зараженных семян в стерильную почву и с посевом стерильных семян в зараженную почву.

Для получения сравнимых результатов в обоих вариантах опыта нами была использована методика, обеспечивающая одинаковость главных условий количества и равномерности распределения инфекционного начала в том и другом варианте. Для внесения инфекции приготовлялась водная взвесь конидий того или иного вида Alternaria с таким расчетом, чтобы при просмотре ее капель в микроскоп при большом увеличении в поле зрения находилось по одной-две конидии.

Семена смачивались этой водной взвесью конидий, просушивались и затем высевались так, чтобы расстояние между ними равнялось 1 см. Необходимая по условиям опыта зараженность семян (100%) контролировалась фитопатологическим анализом пробы, проводившимся обычным способом на агаровой питательной среде.

Почва инфицировалась этой же водной взвесью конидий путем внесения ее капель в посевные бороздки из расчета одна капля на каждый погонный сантиметр. Таким образом, и в том и в другом случае на каждый погонный сантиметр почвы приходилось по одной-две конидии. Перед внесением инфекции на семена и в почву они стерилизовались обычным способом [2].

В каждом варианте опыта для отдельного вида Alternaria высевалось по 500 семян каждой из указанных выше пород. Учет полегания сеянцев производился через каждые два-три дня, путем сбора полегших экземпляров с последующим их фитопатологическим анализом.

Результаты опытов

Данные учета показали, что суммарные потери сеянцев от полегания как при зараженных семенах, так и при зараженной почве, одинаково и по отдельным видам гриба характеризуются следующими средними за два года данными (табл. 1).

Таблица 1

Полегание сеянцев, вызываемое различными видами Alternaria в процентах

Порода и условия опыта		Возбудитель полегания: Виды Alternaria								
		phaseoli-cola	humicola	iridicola	oleracea	peponis	radicina	raphani	tenuis	контроль
Сосна	питомник	3		2	2	1	1	3	7	0
	теплица			7		0	0	4	19	0
Ель	питомник	1	0	4	1	1	1	1	5	0
	теплица			13		9	8	8	10	0
Лиственница	питомник	3	4	3	0	1	1	1	2	0
	теплица			0		9	0	10	14	0

Из данных табл. 1 видно, что в условиях питомника максимальные потери от полегания составляли 7%, а в теплице — 19%. Эти потери

вызваны A. tenuis., оказавшимся наиболее патогенным видом из участвовавших в опыте. На втором месте по патогенности стоит A. iridicola, на третьем A. raphani и A. humicola. Остальные виды вызывают в условиях питомника единичное полегание. Из данных табл. 1 видно также, что резкой специализации отдельных видов по породам не наблюдается.

Наблюдающаяся при полегании сеянцев от гриба Fusarium «скрытая гибель всходов» (проростков в почве) для представителей рода Alternaria не характерна и была обнаружена в отдельных случаях от 2 до 5%.

Результаты исследований о значении почвенной разности на сумму потерь сеянцев от полегания и сравнительной патогенности видов Alternaria и видов Fusarium (смесь видов) приведены ниже (табл. 2).

Таблица 2

Полегание сеянцев, вызываемое грибами Alternaria и Fusarium на разных почвах, в процентах

Почвенные разности		Возбудитель полегания				
		Alternaria				Виды Fusarium
		tenuis	iridicola	humicola	прочие	
Песчаная почва	сосна	11	4	6	2—3	33
	ель	4	3	0	1	6
	лиственница	5	6	4	0	14
Торфяная почва	сосна	1	1	2	1	20
	ель	1	1	0,5	0—1	4
	лиственница	0	0	0	0	10
Перегнойная почва	сосна	1	1	1	1	30
	ель	1	1	0,2	0—1	3
	лиственница	1	1	0,7	0—1	9

Из табл. 2 видно, что наибольшие потери от полегания, вызываемого грибом Alternaria, наблюдаются на песчаной почве, где они достигают 11%. Потери от полегания, вызываемого грибом Fusarium, в этих же условиях достигают 33%. Следовательно, потери сеянцев сосны от гриба Alternaria на песчаной почве в три раза меньше, чем от гриба Fusarium. На других почвенных разностях они меньше во много раз (для всех данных пород). Это указывает на то, что гриб Alternaria значительно уступает в патогенности грибу Fusarium.

Таблица 3

Сравнительная патогенность A. tenuis и F. solani в процентах

Условия опыта	A. tenuis	F. solani
Питомник	7	17
Теплица	11	25

Правильность этого весьма важного для практики вывода была подтверждена нами специальными опытами с посевом семян сосны в питомнике и в теплице. Для этих опытов использовались семена, на 50% зараженные конидиями наиболее патогенного представителя рода Alternaria (A. tenuis) и рода Fusarium [F. solani (Mart.) App. et Wr.]. Результаты опытов приведены в табл. 3.

Из табл. 3 видно, что в одних и тех же условиях опыта потери от полегания, вызываемого A. tenuis, вдвое меньше, чем потери от F. solani.

Таким образом, на основании приведенных выше материалов можно считать, что представители рода Alternaria в условиях таежной зоны значительно менее патогенны, чем представители рода Fusarium.

Однако это не исключает необходимости дезинфицировать семена, зараженные грибом Alternaria, хотя по нашему мнению, «допустимый процент» зараженных семян [4] можно установить более высокий, например до 7.

Учитывая, что действие фунгисидов на отдельные виды Alternaria до сего времени не было изучено, мы провели испытания четырех фунгисидов (перманганат, формалин и кислоты — серная и уксусная) для дезинфекции семян сосны, зараженных изучавшимися нами видами.

Испытания велись с семенами, зараженными на 100% конидиями гриба отдельно по видам, путем обработки растворами данных фунгисидов различной концентрации.

Результаты испытаний показали, что концентрации растворов, рекомендуемые в литературе [2] для обработки семян, зараженных грибом Alternaria, неэффективны.

Наши испытания показали, что полная стерилизация семян, зараженных изучавшимися нами видами Alternaria, достигается:

3%-ным	раствором	перманганата	при	экспозиции	30 минут
0,15%-ным	»	формалина	»	»	60 »
2,5%-ным	»	серной кислоты	»	»	30 »
1,0%-ным	»	уксусной кислоты	»	»	30 »

Как показали исследования Журавлева [3], для дезинфекции семян хвойных пород, зараженных грибом Alternaria, можно применять разработанный им гидромеханический метод.

Выводы

1. На семенах и сеянцах сосны, ели и лиственницы авторами обнаружены следующие виды Alternaria: A. iridicola E. et E., A. oleracea Milbr., A. peponis Yat., A. radicina M. D. et E., A. raphani Wilt., A. tenuis Nees.

2. Изучение патогенности этих видов и двух видов, выделенных с сельскохозяйственных растений,— A. phaseolicola Yat и A. humicola Oud.— показало, что в условиях таежной зоны большинство из них являются слабыми паразитами и в питомниках вызывают лишь единичные случаи полегания сеянцев.

Наиболее патогенны A. tenuis и A. iridicola, вызывающие полегание до 10% сеянцев.

3. В тепличных условиях изучавшиеся виды Alternaria вызывали полегание до 20% сеянцев.

4. Изученные виды Alternaria вызывают «скрытую гибель» сеянцев, т. е. гибель проростков до выхода их на поверхность почвы, в незначительной степени.

5. Для дезинфекции семян, зараженных грибом Alternaria, следует применять растворы перманганата (3%), формалина (0,15%) или кислот: серной (2,5%) и уксусной (1%). Применение фунгисидов при желании можно заменить гидромеханическим методом.

Ленинградская контрольная
станция лесных семян

Получено 5.II 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ванин С. И. Лесная фитопатология. Гослестехиздат, 1949.
2. Журавлев И. И. Практические указания по дезинфекции лесных семян и почвы, стр. 4, 10. Л., 1947.
3. Журавлев И. И. Новый способ дезинфекции семян. Лесное хозяйство, № 7, 1952.
4. Журавлев И. И. и Соколов Д. В. Грибные болезни семян древесных и кустарниковых пород, стр. I, 19, 38, Л., 1947.
5. Карпова-Бенуа Е. И. Полегание сеянцев хвойных пород. Гослестехиздат, 1934.
6. Орлова А. А. Устойчивость сеянцев дуба и желтой акации к болезни полегания. Лесное хозяйство, № 11, 1950.

ЭМБРИОГЕНЕЗ И ОНТОГЕНЕЗ МИКРОБОВ

Г. П. Калина

Статический метод изучения морфологии и биологии микробных клеток, характерный для ранних этапов развития микробиологии, полностью изжил себя в настоящее время. Творческое развитие биологии, связанное с именами И. В. Мичурина, Т. Д. Лысенко и О. Б. Лепешинской, находит свое отражение и в выявлении особенностей развития микробной клетки. Стало возможным говорить об онтогенезе микроба так же, как давно уже говорят об онтогенезе растительных и животных организмов. Однако самое понятие онтогенеза применительно к микробам различными авторами рассматривается неодинаково, и это ведет к путанице наших представлений о характере развития микробной клетки.

Едва ли нужно доказывать всю узость и ограниченность мономорфистских представлений об онтогенезе микробной клетки как о периоде жизни ее от момента «деления» материнской клетки на две «дочерних» до деления каждой из последних на две «внучатых». О. Б. Лепешинская справедливо критиковала Токина за подобные представления об онтогенезе, называя их нездоровыми и ведущими к метафизическим трактовкам.

Несколько более широкие представления об онтогенезе даются в гипотезах, согласно которым онтогенез не ограничивается развитием микробной клетки между двумя делениями, а происходит на протяжении более длительного периода в микробной популяции, от момента посева в свежую питательную среду до прекращения в последней жизненных процессов (размножения клеток, обмена веществ и т. п.). Подобная гипотеза в последнее время поддерживается Н. Д. Иерусалимским ([2] стр. 8). Правда, Иерусалимский пытается разграничить онтогенез культуры и онтогенез (жизненный цикл) бактерий, считая, что эти понятия отнюдь не тождественны. Однако разницу он видит лишь в том, что «далеко не все особи в бактериальной культуре успевают пройти весь свой нормальный цикл развития». Едва ли эта разница принципиальна, если принять во внимание, что в своем онтогенезе микроорганизмы в каждой стадии могут существовать на протяжении ряда генераций и что под индивидуальным циклом у микробов подразумевается нечто иное, чем у растительных и животных организмов, у которых онтогенез действительно отражает строго индивидуальное развитие.

Н. Д. Иерусалимский понимает под онтогенезом микробной культуры развитие микробной популяции от начала размножения микробных клеток в свежезасеянной среде до момента прекращения жизненных процессов в старой культуре. На протяжении всего этого периода роста культуры наблюдаются смены биологических процессов, которые и расцениваются Иерусалимским как смены стадий развития. Различные продукты распада углеводных и белковых питательных субстратов отражают, по Иерусалимскому, отдельные этапы развития или отдельные периоды развития культуры. Подчеркивая, что отдельные особи популяции проходят развитие неравномерно и что на каждом этапе в культуре присутствуют клетки, имеющие различную стадийную зрелость, Иерусалимский все же приходит к выводу, что различные условия, создающиеся в среде в разные периоды развития, нивелируют эту разностадийность: отставшие в развитии клетки вымирают в результате того, что

изменившиеся условия среды перестают отвечать их потребностям. Таким образом, условия, создающиеся в питательной среде под влиянием жизнедеятельности популяции, в свою очередь оказывают решающее влияние на последовательную смену стадий развития данной популяции. Получается так, что микробы сами, своей жизнедеятельностью, создают условия, определяющие их последующее онтогенетическое развитие.

Подобный вывод, невольно напрашивающийся при анализе гипотезы Иерусалимского, вытекает из допущения возможности отождествления условий, создающихся в искусственной среде, в замкнутом пространстве с несменяемым питательным субстратом, с условиями внешней среды. Можно ли переносить данные, получаемые при искусственном культивировании, на условия естественного обитания микроорганизмов? Иерусалимский считает, что можно, и опирается при этом на то, что и во внешней среде микробы ведут «колониальный» образ жизни. В качестве примера приводятся не только почвенные микробы, адсорбированные на плотных частицах и развивающиеся на ограниченном пространстве, но и водные микробы, ведущие «прикрепленный образ жизни» на взвешенных в воде частицах. Даже в организме животных и человека патогенные бактерии, по мнению Иерусалимского, развиваясь в виде скоплений в тканях, представляют из себя популяцию, аналогичную популяции в питательной среде. При этом подчеркивается несоответствие между крайне интенсивным обменом веществ бактерий и недостаточно быстрым притоком свежих питательных веществ и оттоком продуктов выделения, что наблюдается, по мнению Иерусалимского, даже в таком гомогенном субстрате, как вода. Все это приводит к образованию «застойных микрозон», соответствующих стареющим микробным культурам. Таким образом, и в условиях естественного обитания, как и в условиях искусственной питательной среды, микробы периодически сталкиваются с ухудшением условий существования, обуславливающих вначале замедление размножения и приостановку его, а в конечном результате — образование покоящихся форм. Последние, попадая в благоприятные условия — в искусственной питательной среде при пересеве, а во внешней среде в результате появления в сфере деятельности микробов свежих, никем не заселенных питательных субстратов — дают начало новому поколению вегетативных форм, т. е. новому развитию популяции.

Такая внешняя аналогия на первый взгляд кажется вполне приемлемой и убедительной. Однако при более глубоком рассмотрении выявляются несомненные и принципиальные различия между условиями пребывания микробов во внешней среде и на искусственных питательных средах, в замкнутом пространстве — в пробирке, колбе и т. п. В жидких субстратах внешней среды едва ли можно предполагать обитание микробов только во взвешенном состоянии на тех или иных плотных частицах. Несомненно, что наиболее естественным образом жизни водных микроорганизмов является свободное существование, учитывая особенно то обстоятельство, что большинство водных микробов обладает активной подвижностью и, следовательно, может перемещаться из «застойных зон» в зоны, обладающие достаточными запасами питательных веществ. Но даже и для почвенных микробов, действительно развивающихся в ограниченных пространствах вследствие адсорбции на плотных частицах, трудно допустить длительное существование в неменяющейся среде, подобно тому, как это имеет место в пробирке. Интенсивность смены среды в почве настолько превосходит статическое состояние среды в пробирке, что проводить аналогию между теми и другими условиями существования едва ли возможно. В лучшем случае можно сравнить условия, создающиеся в почве, с условиями, получаемыми при культивировании в непрерывно сменяемой среде (например, в микрогенераторе Утенкова). Еще меньше повода для сравнения условий искусственной питательной среды с условиями, с которыми микроб сталкивается в боль-

ном организме. Здесь Иерусалимский совершенно неправильно рассматривает живой организм как неизменяющуюся (вернее, изменяющуюся в одном направлении — в сторону ухудшения условий существования микробов) среду. Даже в естественных полостях, как, например в кишечнике, нельзя отрицать богатство динамических процессов, смену флоры и непрерывное пополнение все новыми и новыми питательными веществами как за счет потребляемой макроорганизмом пищи, так и за счет выделения стенками кишечника всевозможных экскретов, являющихся для микробов источниками питания.

Если смена условий существования во внешней среде значительно превосходит таковую в пробирке, то совершенно обратные соотношения выявляются при сравнении интенсивности жизненных процессов в тех и других условиях. Сам же Иерусалимский указывает, что «бактерии далеко не всегда имеют в своем распоряжении (в естественных условиях своего существования.— *Г. К.*) достаточное количество питательных веществ. Поэтому в определенные периоды они пребывают в виде покоющихся форм или едва-едва размножаются» ([1] стр. 23). Думается, что подобные периоды в жизни микробов во внешней среде возникают чаще, чем это представляется Иерусалимскому. Едва ли можно отрицать, что темпы размножения во внешней среде, как правило, значительно отстают от темпов размножения в условиях оптимальной питательной среды в пробирке. Если сопоставить такое более замедленное размножение с более частым обновлением питательных субстратов (пусть даже недостаточных для интенсивного размножения) в естественных условиях обитания микробов, то становится ясно, что проводить какую-либо аналогию между пребыванием микробов в естественной и искусственной среде едва ли возможно.

Все изложенное заставляет придти к убеждению, что условия пребывания микробов во внешней среде, включая и человеческий и животный организмы, несравнимы с условиями их пребывания в пробирке или колбе, наполненных несменяемой питательной средой.

Допустим, однако, что основная предпосылка Иерусалимского правильна и данные по изучению поведения микробов в условиях искусственной среды можно с известным приближением перенести на обычный, присущий им образ жизни.

По Иерусалимскому, «онтогенезы у отдельных видов организмов резко между собою различаются; они подразделяются на весьма разнообразные, не сходные между собою фазы. Но с биологической точки зрения фазы всякого индивидуального развития можно объединить и сгруппировать в 4 основных периода: эмбриональный, ростовой, зрелость и старость» ([2] стр. 13—14). Эти же основные периоды он обнаруживает и в онтогенезе бактериальной культуры.

Первый, эмбриональный период развития культуры состоит, по Иерусалимскому, в том, что засеянные в среду «покоющиеся формы» (под которыми подразумеваются споры, покоющиеся клетки и фильтрующиеся формы) «пробуждаются к жизни» и проростают, а вегетативные клетки, перенесенные из старой культуры, физиологически активируются — «омолаживаются» (взято в кавычки самим Иерусалимским). При этом подчеркивается, что «если посевной материал физиологически молод, а условия среды достаточно благоприятны для роста, то эмбриональный период развития культуры может и отсутствовать.» ([2] стр. 14). Следовательно, Иерусалимский допускает особую форму онтогенеза без эмбрионального периода. Тем самым он вступает в конфликт с общепринятыми представлениями об онтогенезе, допуская начало последнего непосредственно с периода роста. Тем самым Иерусалимский полностью разрушает им же самим созданную систему онтогенеза микробной культуры.

Нам кажется, что если даже признать онтогенетическое развитие микробов в культуре соответствующим гипотезе Иерусалимского, то

прежде всего необходимо исключить из него ту форму развития, при которой в свежую питательную среду вносятся «вегетативные» клетки, т. е. взрослые клеточные формы. Мифическое омоложение клеток, самим же Иерусалимским взятое в кавычки, ничем не доказано и едва ли существует. Взрослые клеточные формы, перенесенные в свежую питательную среду, продолжают онтогенез старой культуры, поскольку их присутствие в последней указывает, что онтогенез в ней еще не завершен. В этих условиях не приходится говорить о начале онтогенеза в свежей среде. Совершенно ясно, что в данном случае мы имеем дело с кажущимся началом онтогенеза, являющимся фактически продолжением развития популяции, осуществлявшегося в культуре, из которой был сделан пересев. Совершенно то же происходит во внешней среде при обновлении питательности субстрата, что, как мы видели, имеет место почти непрерывно.

Подобная возможность поддержания онтогенеза в одной фазе его развития при пересевах из одной среды в другую имеет большое принципиальное значение. Логично предположить, что другие фазы развития, в частности — эмбриональная, подобным же образом могут сохраняться в ряде генераций на питательных средах.

Вторая форма начала онтогенеза, по Иерусалимскому, имеет место тогда, когда в свежую среду переносятся споры. Не приходится спорить с тем, что внесенная в свежую среду спора, прорастая и давая начало новому поколению вегетативных клеток, может считаться началом онтогенеза культуры. Но, не говоря уже о том, что спорообразование присуще далеко не всем микробным видам и, следовательно, начало онтогенеза с момента прорастания спор не может считаться общебиологической закономерностью, возникает вопрос, можно ли считать спору эмбриональным периодом онтогенеза. Биологические требования споры и вегетативной формы к условиям внешней среды практически одинаковы. Споры прорастают в свежей среде, и в этой же среде осуществляется последующее размножение вегетативных клеток. Споры — своеобразная форма существования последних и обладает всеми атрибутами клеток. Отсюда — прорастание спор в свежей среде, внешне отражая, как будто, первый эмбриональный период онтогенеза, фактически составляет лишь отдельный эпизод одной из стадий развития — стадии клеточного существования микроба.

По Иерусалимскому, одной из «покоющихся форм», завершающих онтогенез микробной популяции, являются фильтрующиеся или доклеточные формы. «Сюда же (к покоющимся клеткам.— *Г. К.*), повидимому, относятся и те фильтрующиеся формы бактерий, которые пребывают в устойчивом и покоющемся состоянии» ([1] стр. 40). В старых бактерийных культурах эти формы, представляющие из себя живое доклеточное вещество, образуются в результате непрерывно осуществляющегося распада микробных клеток под влиянием автолитических процессов. Начало образования доклеточных форм жизни имеет место еще в относительно молодых культурах в результате физиологического старения отдельных клеток. Присутствие этих форм, при наличии в популяции еще размножающихся взрослых клеточных форм, может привести к их регенерации в молодые предклеточные и клеточные формы еще в той же культуре в периоды роста и зрелости популяции. Это находит отражение в появлении при высеве на чашки карликовых колоний, состоящих из зернистых форм и обладающих всеми свойствами вторичных культур, получаемых при регенерации клеток из доклеточного вещества после фильтрации. Это находит отражение также в появлении на поверхности колоний на плотных питательных средах так называемых дочерних узелков или колоний. Таким образом, в одной и той же популяции, даже без обновления среды, может иметь место начало нового онтогенетического развития микробов, что противоречит утверждению Иерусалимского о том, что развитие культуры неминуемо должно заканчиваться периодом ста-

рения и переходом в покоющиеся формы. В данном случае, следовательно, отсутствует та нивелировка разностадийных клеток, которая, по Иерусалимскому, является веским доводом в пользу признания возможности применить понятие онтогенеза к микробной культуре (см. стр. 723).

Пересев из старой культуры в свежую среду в тех случаях, когда в первой еще сохраняются способные к размножению взрослые клеточные формы, приводит к развитию последних. Тем самым маскируется истинный эмбриогенез, заключающийся в развитии новых клеточных форм из доклеточного живого вещества. И только тогда, когда старая культура по ортодоксальным представлениям классической микробиологии, может считаться полностью «отмершей», пересев из нее в свежую среду, при создании определенных условий, может дать начало истинному эмбриональному периоду нового онтогенетического развития. Можно, однако, и до наступления этого конечного периода онтогенеза получить начало нового развития микробной популяции из доклеточного вещества, если искусственно отделить последнее от сохранившихся еще в старой культуре клеточных форм путем фильтрации. К этому обычно и прибегают для доказательства наличия в культуре фильтрующихся форм и получения из последних так называемых «вторичных культур» — следствия эмбрионального развития новой популяции, т. е. начального периода истинного онтогенеза.

Из всего изложенного ясно, что можно говорить об онтогенезе в микробной культуре в истинном смысле этого слова лишь тогда, когда отправной, исходной точкой для онтогенеза служат доклеточные фильтрующиеся формы. Развитие последних в предклеточные, зернистые формы и составляет эмбриональный период микробного онтогенеза.

Одним из доводов, которые обычно приводятся против роли живого доклеточного вещества, как начального этапа онтогенеза микроорганизмов, является утверждение об относительной редкости их обнаружения в фильтратах культур или тех или иных субстратов. При этом основываются на косвенном признаке — переходе доклеточного живого вещества в следующую стадию развития, обнаруживаемую уже по видимому росту на питательных средах. Незнание условий, при которых должен закономерно совершаться этот переход, используется, следовательно, для утверждения о редкости образования живого доклеточного вещества. Едва ли это может считаться правильным. Во всяком случае, в условиях, когда в субстрате сохраняются и крупные конгломераты живого доклеточного вещества, например в нефильтрованных фаголизаторах, можно закономерно наблюдать вторичные культуры, т. е. последующие этапы онтогенетического развития. Следовательно, образование доклеточного вещества в лизатах — явление совершенно закономерное и говорить о редкости этого явления не приходится.

Образование доклеточного живого вещества микробных клеток непрерывно осуществляется и во внешней среде. Это доказано многочисленными исследованиями. Несомненно также, что в условиях постоянного ассоциативного существования микробов во внешней среде создаются предпосылки к постоянному развитию микробных клеток из доклеточного живого вещества. Другими словами, эмбриональный период развития микробов также часто встречается в условиях естественного существования, как и в искусственных условиях. Доказано также образование фильтрующихся форм и возникновение из них клеток в организме человека и животных в тех случаях, когда дело касается патогенных микробов. Все это позволяет утверждать, что именно онтогенез микробов, начинающийся с эмбрионального развития доклеточного живого вещества, может расцениваться как реально существующий путь развития микробов и в естественных и в искусственных условиях их существования.

Возникновение клеточных форм из доклеточного живого вещества в условиях искусственной питательной среды — процесс, осуществляющий-

ся с большим трудом. Мы не знаем еще всех условий, требуемых этой стадией развития для перехода в последующую стадию — предклеточную или зернистую. Имеются указания на необходимость многочисленных пересевов из среды в среду для того, чтобы получить только один этап развития — переход доклеточного вещества в предклеточную стадию. Последняя еще в большей степени способна закрепляться на протяжении иногда большого количества генераций и часто переход в последующую стадию развития осуществляется лишь после многих пересевов. Образующиеся в результате этого перехода иные клеточные формы достигают завершения своего развития, т. е. превращения в зрелые формы, обладающие всем комплексом признаков, присущих данному микробному виду, также с большим трудом и опять-таки в результате многочисленных пересевов через большое количество питательных сред.

Таким образом, истинный онтогенез микробов, начинающийся с эмбрионального периода развития доклеточного живого вещества, выглядит в действительности значительно сложнее, чем это отражено в гипотезе Иерусалимского, допускающего прохождение всего онтогенетического развития микробов в одной и той же питательной среде, в одной и той же пробирке. То, что понимает Иерусалимский под онтогенезом бактерийной культуры, является лишь небольшим отрезком онтогенетического развития микроорганизмов, включающим только этап зрелости и, если культура сохраняется без пересева, этап старости.

Включая в онтогенез, в качестве эмбрионального периода, развитие клеток из доклеточного вещества, Иерусалимский тем самым невольно переносит центр тяжести всего онтогенеза именно на этот период. В сущности и по времени, необходимому для этого периода, и по его сложности он занимает наибольшую часть всего онтогенетического развития микробов. Последующие периоды развития клеточных форм в понимании Иерусалимского — рост, созревание и старость — только эпизоды в развитии одной стадии (взрослой клеточной) онтогенеза.

Мы понимаем последующие периоды онтогенеза иначе, чем Иерусалимский: эмбриональный период (доклеточное живое вещество) завершается образованием предклеточных зернистых форм. Эти последние, обладая ясно выраженной способностью размножения, дают видимый макроскопически рост, отражающий ростовой период онтогенеза. Ростовой период продолжается и после перехода предклеточных форм в юные клеточные и заканчивается тогда, когда клеточные формы достигают своей зрелости, приобретая все свойства и признаки, присущие данному микробному виду. С этого момента начинается период зрелости, который, как и завершающий период онтогенеза в общем может быть принят в трактовке Иерусалимского, с той разницей, что у отдельных особей завершающий этап может наступать не обязательно в результате полного старения культуры, а в тот период, когда большинство других членов популяции находятся еще в периоде зрелости и полны жизненной энергии.

Предлагаемая нами схема онтогенетического развития микробов ничем принципиально не отличается от представления о клеточном онтогенезе, даваемого О. Б. Лепешинской: «Всякая клетка имеет свое онтогенетическое развитие, т. е. свой эмбриогенез или свое эмбриональное развитие из живого вещества вне или внутри клетки, свою юность, взрослое состояние, когда она размножается путем прямого деления, почкования; затем наступает ее старость и разрушение, т. е. переход в живое вещество, из которого, согласно нашему взгляду, образуются новые клетки» ([3] стр. 37). Обращаем внимание на заключительную фразу этой стройной и вполне логичной концепции. Эта заключительная фраза опровергает возможное мнение о том, что физиологический цикл («от семени до семени») не может включать период старости, который является отклонением, приводящим к смерти, т. е. прекращению всякого развития.

Недаром О. Б. Лепешинская подчеркивает, что «учение товарища Сталина о взаимосвязи и взаимообусловленности, о непрерывном движении и изменении, где всегда что-то возникает и развивается, что-то отживает и разрушается, полностью помогает нам понять, что происходит в процессе кариокинетического деления. Мы и здесь видим развитие клетки, ее отмирание и новое образование клеток» ([3] стр. 37). Клетка, как таковая, завершает свой онтогенез, перестает существовать, но жизнь вновь возрождается из живого доклеточного вещества, входившего в состав этой клетки.

Отражает ли предлагаемая нами схема онтогенеза и эмбриогенеза стадийное развитие микробов в понимании Т. Д. Лысенко? Мы даем пока лишь морфологическое отражение онтогенеза. Вряд ли ошибочным является представление о том, что смена морфологических этапов онтогенеза осуществляется на базе разнокачественных требований, предъявляемых отдельными стадиями развития к условиям внешней среды и сложившимся в процессе эволюционного развития микробов. Однако эти требования пока остаются нерасшифрованными. Вскрытие всех биологических закономерностей стадийного развития микробов — наша основная задача. Решение этой задачи, однако, едва ли правильно искать в особенностях развития микробной культуры, состоящей из взрослых микробных клеток.

И наконец, наша схема наиболее правдоподобно отражает морфологические, а может быть и физиологические, этапы филогенетического развития микробов, чего нельзя сказать о схеме, предлагаемой Иерусалимским.

Черновицкий медицинский институт

Получено 30.XI.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иерусалимский Н. Д. Проблема онтогенеза бактерий и пути к ее разрешению. Тр. Ин-та микробиологии АН СССР, вып. 1, стр. 5, 1952.
2. Иерусалимский Н. Д. Физиология развития чистых бактериальных культур. Автореферат дисс., 1952, Москва.
3. Лепешинская О. Б. Развитие жизненных процессов в доклеточном периоде. Из-во АН СССР, Москва.

ТЕРМОФИЛЬНЫЕ АКТИНОМИЦЕТЫ

(Обзор)

А. Е. Космачев

К термофильным актиномицетам относятся актиномицеты, хорошо растущие при 50—60° и выше, независимо от их температурного минимума роста. Ниже будут приведены работы, показывающие, что термофильные актиномицеты довольно четко отграничиваются от мезофильных тем, что последние не дают никакого роста при 50°.

Сравнительно небольшое количество работ о термофильных актиномицетах сводится, в ряде случаев, к описанию морфолого-физиологических и культуральных признаков выделенных микроорганизмов. Однако имеются работы, где затронуты или разрешены вопросы, представляющие теоретический и практический интерес.

В данном обзоре делается попытка систематизировать весь имеющийся материал.

Распространение термофильных актиномицетов

Термофильные актиномицеты были обнаружены в самых различных субстратах: в почве (Циклинская, 1898; Gilbert, 1904; Globig, 1888; Waksman, 1939); в сточной и речной воде (Берестов, 1897; Kedzior, 1896); в горячем источнике (Ascione, 1927); в навозе (Katznelson, 1940; Waksman, 1939); компостах (Waksman, 1939); экскрементах человека и животных (Циклинская, 1903; Black, 1928; Bruini, 1905); в молоке (Eckford, 1927; Sames, 1900); масле (Ascione, 1927); сыре (Bernstein, 1934); при самонагревании сена (Miehe, 1907; Shütze, 1908), торфа (Исаченко и Мальчевская, 1936), зерна (Исаченко и Ончукова, 1934; Раутенштейн, 1939), полуфабриката сахара (Schöne, 1911), а также в воздухе (Имшенецкий, 1944; Bergey, 1919). Лиске (Lieske, 1921) находил термофильные актиномицеты во всех пробах самых различных субстратов наряду с мезофильными актиномицетами. Он обнаружил наличие термофильных актиномицетов во всех исследованных им почвенных пробах на поверхности и в глубине до 1,8 м, в сухом торфе. Очень много термофильных актиномицетов этот автор выделил из верхних слоев лесных и садовых почв; регулярно и в больших количествах он находил их в траве, сене и соломе, экскрементах кроликов, баранов, морских свинок и кур.

Количественный учет термофильных актиномицетов в почвах и компостах провел Ваксман в 1939 г. Он использовал различно обработанные участки экспериментальных полей в Нью-Джерси, каждый из которых одинаково обрабатывался и удобрялся в течение 30 лет. Пробы брались 3 раза в год, зимой (январь), весной (май) и летом (июль). Посев производился на несколько сред в чашки Петри, которые выдерживались в термостате при 50° 2—5 дней. Термофильные актиномицеты были обнаружены во всех почвах и во все сезоны года. В замерзших почвах они составляют в среднем 10 000—15 000 на 1 г.

В почвах, получающих только минеральное удобрение, количество термофильных актиномицетов повышалось по сравнению с неудобренны-

ми почвами и особенно много их было в почвах, удобренных навозом,— в среднем 200 000 на 1 г в весенних и летних пробах на крахмальном агаре. Зимой термофильные актиномицеты составляли 10—15% от всей термофильной микрофлоры, весной же и летом 70—90%.

При изучении микрофлоры компостов Waksman инкубировал свежий лошадиный навоз в фарфоровых закрытых стеклом сосудах при 50—65° и влажности 75—80%. Наибольшее количество термофильных актиномицетов, определяемых высевом на чашки, наблюдалось на 10-й день (3—10 млрд. на 1 г).

Мишустин, анализируя соотношение термофильных актиномицетов и бактерий в почвах различных зон, пришел к выводу, что основная масса термофильной микрофлоры состоит из бактерий и что доминирования термофильных актиномицетов в летний период не наблюдается. Он связывает количество термофильных микроорганизмов в почвах с попаданием их туда из навоза и с окультуренностью почвы. Приведенная Мишустиным таблица содержит анализы почв только на МПА.

Здесь же показано, что термофильные актиномицеты обнаруживаются также в северных почвах (Мурманская обл., Игарка).

Методы выделения и культивирования термофильных актиномицетов

Для выделения термофильных актиномицетов разными авторами использовались разнообразные методики. Циклинская (1898) накладывала измельченные частицы земли и навоза на пластинки картофеля и инкубировала их при 53—55°; через 16 час. на поверхности картофеля, наряду с бактериями, обычно появлялся белый порошкообразный налет актиномицетов.

Лиске применял для их выделения 3%-ный лактозный питательный агар, так как лактоза способствовала спорообразованию.

Выделение термофильных актиномицетов хорошо удается на крахмальном агаре (Ваксман, 1939), крахмально-аммиачно-сульфатном агаре (Имшенецкий, 1944; Katznelson, 1940), а также на МПА, однако на последнем быстрый пленочный рост бактерий очень мешает выделению культур актиномицетов. Выделение лучше производить на крахмально-аммиачно-сульфатном агаре, на котором наблюдается слабый рост более требовательных к среде термофильных бактерий и, наоборот, хороший рост термофильных актиномицетов.

На среде Чапека с глюкозой и KNO_3 рост термофильных актиномицетов значительно хуже (Krohn, 1923). Наиболее подходящая температура для выделения 55—60°.

Культивирование термофильных актиномицетов удается на самых различных средах, хотя они и более требовательны к субстрату, чем мезофильные актиномицеты. Из плотных сред применялись: МПА, картофель (Имшенецкий, 1944; Циклинская, 1898; Bruini, 1905), картофельный агар, глицериновый и сахарный питательный агар, агар на отваре из клеверного сена (Schütze), кусочки сена, клевера, агар Чапека (Кацнельсон), крахмальный агар (Ваксман), крахмально-аммиачно-сульфатный агар (Имшенецкий, Katznelson), яично-альбуминовый агар (Ваксман), пептонный агар с добавлением 5% казеина, 0,5% горохового экстракта и 1% растворимого крахмала (Erikson, 1952).

На агаре Чапека, являющемся хорошей средой для большинства мезофильных актиномицетов, рост термофилов слабый. Хороший рост их наблюдается на крахмально-аммиачно-сульфатном агаре, а также на агаре с вытяжками из естественных субстратов, в которых обитают термофильные актиномицеты. Из жидких сред применялись: МПБ, настой из земли и навоза (Циклинская, 1898), растворы минеральных солей с добавлением аспарагина, пептона, декстрозы в разных вариантах, бульон с сахаром,

картофельный отвар и пивное сусло (Имшенецкий), сенной отвар (Miehe, 1907), вытяжка из переброженного клеверного сена (Schütze). Одни авторы отмечают хороший рост на МПБ (Циклинская, 1898), другие, напротив, слабый (Schütze), что объясняется, вероятно, тем, что они имели дело с различными микроорганизмами.

Хороший рост отмечается на вытяжках и сенных отварах. На жидких средах в большинстве случаев такого пышного роста, как на твердых, не наблюдается.

Очистка культур от сопутствующей термофильной микрофлоры требует бо́льших усилий, чем очистка мезофильных актиномицетов. Очистка удается на кусочках картофеля, картофельном агаре и других средах.

Морфолого-культуральные признаки, жизненный цикл и биохимическая активность термофильных актиномицетов

Морфология. Термофильные актиномицеты образуют разветвленный мицелий из нитей диаметром от 0,2 μ до 1μ. Циклинская (1898) описала термофильный актиномицет, нити которого имели диаметр 1,2—1,5 μ.

Колонии термофильных актиномицетов, при рассматривании их в микроскопе при малых увеличениях, похожи на обычные колонии лучистых грибков.

Разные авторы описывают наличие у термофильных актиномицетов прямых или спиральных спороносцев; имеются также формы с одиночными спорами на коротеньких веточках.

На твердых средах термофильные актиномицеты растут в виде плоских колоний, достигающих 3—4 см в диаметре, покрытых в большинстве случаев налетом, состоящим из воздушных гиф и спор. Термофильные актиномицеты образуют воздушный мицелий и субстратный, который иногда плотно врастает в агар, что зависит от среды и вида гриба. Часто воздушные гифы и споры термофильных актиномицетов имеют белоснежно-белый цвет. Многие термофильные актиномицеты в процессе развития изменяют цвет своих колоний на агаре от белоснежно-белого до желтого, грязно-зеленоватого, коричневого и даже черного. На мясном бульоне термофильные актиномицеты растут в виде рыхлых хлопьев, спускающихся на дно сосуда, иногда они образуют на поверхности жидкую пленку.

Рост и размножение. Термофильные актиномицеты обладают большой скоростью роста, что было отмечено еще первыми исследователями этих микроорганизмов. Подробнее рост термофильных актиномицетов был изучен Имшенецким и Авдиевич (1944). Они показали, что прорастание спор термофильных актиномицетов наблюдается при 60° уже через 2 часа, а через 24 часа биомасса на картофельном отваре достигает своего максимума.

Жизненный цикл термофильных актиномицетов не отличается от такового мезофильных. Все термофильные актиномицеты образуют споры круглые или эллипсоидальные диаметром от 0,5 μ до 1,4 μ, которые, прорастая, дают мицелий. Споры термофильных актиномицетов очень стойки к неблагоприятным условиям. Они образуются в большом количестве, выполняя, таким образом, функции размножения и сохранения вида. Споры термофильных актиномицетов лучше образуются на твердых средах при оптимальных температурах для роста данного вида. Отмечается плохое образование спор (Miehe, 1907) или полное их отсутствие (Schütze, 1908) на МПА и при росте в бульоне без образования пленки. Обильное спорообразование наблюдалось на крахмально-аммиачно-сульфатном агаре (Katznelson). Обильный рост и спорообразование часто идут параллельно. Споры термофильных актиномицетов устойчивы к неблагоприятным условиям. Они переносят восьмичасовое действие прямых солнечных лучей, десятидневное пребывание в 5%-ной карболовой кислоте, пятинедельное высушивание (Берестнев; Kedzior). Данные разных

авторов об устойчивости спор термофильных актиномицетов весьма противоречивы, что, видимо, объясняется разнокачественностью культур, с которыми они работали. Erikson (1952) показал, что термоустойчивость спор в значительной степени зависит от методики исследования, в частности от способа приготовления исследуемого материала. Об устойчивости спор к различным температурам будет сказано дальше. В процессе развития некоторые термофильные актиномицеты способны к автолизу.

Кацнельсон изучил термофильный актиномицет, способный к полному автолизу. Автолиз хорошо протекал на крахмально-аммиачно-сульфатной среде и находился в зависимости от pH среды; понижение pH стимулировало автолиз.

Биохимическая активность. Термофильные актиномицеты обладают высокой ферментативной активностью. Многие из них быстро гидролизуют крахмал, свертывают и пептонизируют молоко, разжижают желатину, сбраживают различные сахары и вызывают другие превращения. Биохимические превращения, вызываемые термофильными актиномицетами при высоких температурах, имеют большую скорость. Ваксман показал участие термофильных актиномицетов в разложении растительных остатков, наибольшую активность они проявляли в смешанных популяциях.

Проблема устойчивости плазмы вегетативных клеток термофильных актиномицетов при температурах свертывания белка остается невыясненной. Velich (1916) высказал соображение о качественном отличии белков термофилов. Этого взгляда придерживается ряд исследователей. Allen (1950) считает, что устойчивость плазмы термофилов основана на том, что скорость синтеза ее составных частей и ферментов равна скорости их разрушения. В случае прекращения интенсивного обмена и роста клетки термофильных бактерий в ее опытах гибли при высоких температурах так же быстро, как и мезофильные.

Классификация термофильных актиномицетов

Классификация термофильных актиномицетов разработана слабо. Например, под названием Actinomyces thermophilus описаны разные представители родов Micromonospora и Actinomyces.

Род Micromonospora установлен для мезофильных актиномицетов в 1923 г. Термофильные микромоноспоры, описанные ранее и выделенные вновь, отнесены к этому роду Ваксманом и Красильниковым.

В литературе описано сравнительно небольшое количество видов термофильных актиномицетов, однако часто их трудно идентифицировать из-за неполноты описания, главным образом из-за отсутствия описания характера плодоношения, на которое в значительной степени опирается современная систематика актиномицетов [Красильников; Берджи (Bergey), 1948].

Ниже приводится таблица всех первично описанных по настоящее время термофильных актиномицетов.

В 1921 г. Лиске (Lieske) указывал на разнообразие термофильных актиномицетов, но не дал их классификации. В 1939 г. Ваксман дает схему изученных им термофильных актиномицетов. Она содержит два рода Actinomyces и Micromonospora. В род Actinomyces включены три вида: Act. thermophilus с прямыми спороносцами, Act. thermofuscus со спиральными спороносцами и Actinomyces III — спороносцы узлами вдоль центрального мицелия. Род Micromonospora содержит также три вида: Micromonospora vulgaris с отдельными веточками, на которых находятся одиночные споры, Micr. chalceae с разветвленными веточками и Micr. fusca с группами веточек.

Красильников относит все описанные в его определителе термофильные актиномицеты к родам Actinomyces и Micromonospora. Термофиль-

ные актиномицеты, отнесенные к роду Actinomyces, описаны им как разновидности видов A. flavus и A. albus, оба вида имеют спиральные спороносцы. В роде Micromonospora имеется самостоятельный термофильный вид Micr. vulgaris.

Термофильная микромоноспора Schütze (1908) идентифицирована с Micr. monospora. Мишустин дает отдельную таблицу для определения термофильных актиномицетов. В его таблице приведены актиномицеты, описанные в определителе Красильникова. Мишустин вводит в таблицу нетермофильные виды, которые он идентифицирует с термофилами, описанными Ваксманом.

Сводная таблица первично описанных термофильных актиномицетов

Автор	Год	Название, данное автором	Кардинальные точки роста			Спороношение	Идентифицируется родом
			min.	opt.	max		
Clobig	1888			58°			
Kedzior	1896	Cladothrix thermophile	30°	55°	65°		
Берестнев	1897	Actinomyces thermophilus	30°	55°	70°		
Циклинская	1898	Thermoactinomyces I *	48°	57°	68°	Одиночные	Micromonospora
Циклинская	1898	Thermoactinomyces II		57°		Цепочкой	Actinomyces
Циклинская	1903	Streptothrix thermophili № 12		20°, 37°, 57°			
Циклинская	1903	Streptothrix thermophili № 20	45°	57—58°	67°		
Sames	1900	Streptothrix	22°	55°	62°		
Gilbert	1904	Actinomyces thermophilus	22°	50—55°	60°	Цепочкой	Actinomyces
Bruini	1905	Streptothrix № 9, 12, 14 Str. № 8, 15	37°				
Miehe	1907	Actinomyces thermophilus Berestnew	30°	40—50°	60°	Одиночные	Micromonospora
Schütze	1908	Actinomyces thermophilus	30°	37°, 55°	60°	Цепочкой	Actinomyces
Schütze	1908	Actinomyces monosporus Lehmann u. Schütze	27°	37°, 55°	60°	Одиночные	Micromonospora
Noak	1912	Actinomyces thermophilus	30°	40—59°	62°	Цепочкой	Actinomyces
Velich	1914	Actinomyces spinosporus Spini					
Bergey	1919	Actinomyces thermodiastaticus		65°	70°		
Bergey	1919	Actinomyces nondiastaticus		65°			
Lieske	1921	13 культур					
Krohn	1923			60—65°			
Eckford	1927	Streptothrix thermophilus	45°	55—60°	64°		
Ascione	1927	Streptothrix		45°, 55°	60°		
Black u. Tanner	1928	Streptothrix № 55 u 130					
Bernstein u. Morton	1934	Actinomyces casei		56°			

* Работа помещена также в Ann. Inst. Pasteur, 13, 500, 1899, где этот микроорганизм называется Thermoactinomyces vulgaris.

В последнем издании определителя Берджи (1948) термофильные актиномицеты описаны самостоятельно или как разновидности, они отнесены к родам Streptomyces (Actinomyces) и Micromonospora.

Классификация видов термофильных актиномицетов нуждается в дальнейшей разработке. Необходимо определить их место в общей системе актиномицетов, а также дать удобную для определения таблицу. Термофильных актиномицетов, не принадлежащих к родам Actinomyces и Micromonospora, не описано.

Отношение термофильных актиномицетов к температуре

Кардинальные точки. Оптимум роста большинства описанных термофильных актиномицетов лежит между 50—60°; нижние и верхние температурные границы роста значительно колеблются, особенно нижние. Имшенецкий делит по кардинальным точкам всех бактерий, размножающихся при высоких температурах, на три группы: стенотермные термофилы с оптимумом роста 50—65°; при 28—30° не растут; эвритермные термофилы с оптимумом роста 50—65°, растут очень медленно при более низких температурах (18—30°); термотолерантные виды с оптимумом роста 35—45°, минимумом 5—10° и максимумом 60—70°, они могут размножаться с одинаковой скоростью при 30 и 60°.

Из описанных в литературе термофильных актиномицетов с данными о кардинальных точках к стенотермным можно отнести 12 форм, т. е. большинство (Берестнев, Имшенецкий и Авдиевич, Циклинская, Берджи, Bruini, Eckford, Kedzior, Miehe, Schütze). Это не говорит, однако, о том, что большинство термофильных актиномицетов, живущих в природе принадлежит к стенотермным. Из этих 12 лучистых грибков Streptothrix № 20 (Циклинская, 1903) не рос уже ниже 45°, некоторые не росли ниже 37° (Циклинская, 1898; Bruini). Термофильный актиномицет Schütze не рос при 30 и 60°, одинаково хорошо развиваясь при 37 и 55°. Лучистый грибок Miehe (1907) также не рос при 30 и 60°, имея оптимум роста 40—50°. Последние два микроорганизма несколько выходят за рамки определения стенотермных термофилов. Лучистые грибы Sames, Gilbert и микромоноспору Schütze можно отнести к эвритермным термофилам, они росли при низких температурах (23—27°), имея оптимум 50—55°. Типичных термотолерантных актиномицетов среди изученных нет. Верхней границей роста для термофильных актиномицетов лишь в двух случаях (Берестнев; Берджи, 1919) была описана температура 70°, в двух случаях 67—68° (Циклинская), в двух случаях 62 и 64° (Eckford, Schöne), в остальных случаях 60°. Имшенецкий и Авдеевич имели гриб с оптимумом 60°, Krohn 60—65°, без указания верхних температурных границ роста.

Устойчивость к высоким температурам. Термофильные актиномицеты более устойчивы к высоким температурам, чем мезофильные. Споры некоторых термофильных актиномицетов (Берестнев, Лиске) выдерживают нагревание в текучем водяном паре в течение 3—4 часов, вегетативные нити их (Берестнев) погибают при 100° через несколько минут.

Kedzior отмечает интересный факт, что споры, подвергнутые длительному действию текучего водяного пара, прорастают не сразу, как обычные споры, а через шесть дней. Споры двух других термофильных актиномицетов (Берджи, 1919; Bernstein, 1934) выдерживали двухчасовое нагревание при 100°. Из молока был выделен термофильный лучистый грибок, споры которого выдерживали нагревание при 120° в течение 15 мин. Однако не у всех термофильных актиномицетов споры так устойчивы. Некоторые авторы сообщают, что, по их наблюдениям, споры термофильных актиномицетов гибли при 100° через 20 мин. (Вакcман), через 10 мин. (Miehe, 1907), через 5 мин. (Циклинская, 1898) и даже через 5—10 сек. (Sames 1900). Erikson (1952) показал, что густота сус-

пензии, раствора сахарозы, пептона и разбавленный бульон оказывают при нагревании защитное действие на споры актиномицетов.

Устойчивость к низким температурам. Рядом авторов отмечается интересный факт потери жизнеспособности чистых культур термофильных актиномицетов, хранящихся длительное время при комнатной температуре и ниже. У Schütze в полностью развивавшихся культурах и сохранявшихся несколько месяцев при комнатной температуре большинство спор отмирало. Noak (1912), изучая действие субминимальных температур на гифы термофильных актиномицетов, установил, что они отмирают на агаре и сенном отваре при 5—11° через 14—18 дней, при 15—17° через 27—30 дней, при 20—21° через 32—35 дней. Культуры, которые выращивались при различных температурах, не показали никакого различия в резистентности относительно низких температур. Lieske брал кукурузные початки, сено и почву. После высева их получался рост термофильных актиномицетов, которые после выделения их в чистую культуру гибли, несмотря на образование воздушных спор, в течение короткого времени. В другом опыте он при наложении кукурузных зерен на среду получил культуры термофильных актиномицетов, которые имели минимум роста при 40° и гибли при комнатной температуре менее чем в 8 дней. Термофильные актиномицеты, полученные при 60° из садовой почвы, при комнатной температуре теряли жизнеспособность через 1—2 месяца. Erikson (1952) показал, что чистые культуры термофильных актиномицетов отмирают при комнатной температуре через неделю, в пробирке же при 2° сохраняются в течение 6 месяцев.

Изменчивость температурных точек роста. Термофильные актиномицеты, благодаря своей способности расти при 50—60°, довольно четко обосабливаются от мезофильных актиномицетов. Ваксман испытал более 100 музейных культур мезофильных актиномицетов, ни одна из них не росла при 50°. Лиске пытался постепенно приучить обычные мезофильные актиномицеты к росту при температурах, свойственных термофилам, но это ему не удалось. Этому автору удавалось постепенно приучать термофильные актиномицеты к росту при более низких температурах. Он наблюдал также отщепление в колониях термофильных актиномицетов нетермофильных секторов, которые хорошо росли при комнатной температуре. Lieske допускает возможность скачкообразного возникновения термофильных актиномицетов из мезофильных, что ни им, ни другими авторами доказано не было. Gilbert, указывая на медленный рост своего термофильного актиномицета при 22°, отмечает, что привыкания к этой температуре не наступает.

Отношение термофильных актиномицетов к аэрации

В большинстве случаев термофильные актиномицеты описаны как облигатные аэробы. Заключение о потребности в кислороде делалось главным образом на основании роста по уколу при оптимальной температуре. К факультативным анаэробам относит свои грибки Kedzior и Берестнев. Судя по работам, разница между первыми и последними по отношению к аэрации не велика.

Sames, изучая аэробность при разных температурах, установил, что она при этом различна. При 37° анаэробно актиномицет растет быстрее, чем аэробно. Анаэробно актиномицет растет при 55° хуже, чем при 37°. При более низких температурах всегда рост сравнительно быстрее происходит анаэробно, чем аэробно. Подобные же результаты получил Schütze. Его актиномицет рос по уколу при более низких температурах (37°) лучше, чем при 55°. В этой же работе указывается, что термофильная микромоноспора при посеве уколом давала при 55° лучше поверхностный рост, а при 28° лучше глубинный. Автор объясняет этот факт меньшей на-

сыщенностью агара кислородом воздуха при более высоких температурах. Действительно ли здесь имеется лишь такая простая зависимость, должны показать дополнительные исследования. Облигатных анаэробов среди термофильных актиномицетов описано не было.

Участие термофильных актиномицетов в самонагревании органических субстратов

В настоящее время микробиологическая природа самонагревания различных органических субстратов (сено, компосты и др.) не вызывает сомнений. Установлена значительная роль термофильных актиномицетов в самонагревании.

Сено. В 1907 г. Miehe показал участие термофильных актиномицетов в самонагревании сена. Он изучил термофильную микрофлору самонагревающегося сена, получил чистые культуры и вызвал ими искусственное самонагревание стерильного сена. Из самонагревающегося сена им был выделен лучистый гриб, который он назвал Act. thermophilus Berestnew; судя по описанию и рисункам, гриб является типичной микромоноспорой. В 1930 г. Miehe заражал стерильное сено и хлеб чистыми культурами термофильных актиномицетов при 50°. Через три дня температура повышалась до 63°. Он показал также участие термофильных актиномицетов в самонагревании прорастающих семян.

С самонагревающимся клеверным сеном работал Schütze. Увлажненное клеверное сено, самонагревающееся в цинковой банке 3—4 суток до температуры 60°, равномерно покрывалось белой и серо-зеленой грибной массой. Автор неоднократно выделял два лучистых грибка, один из которых, называемый им Act. thermophilus Berestnew, был представителем рода Actinomyces, а другой грибок, названный им Actinomyces monosporus Lehman u. Schütze, был представителем рода Micromonospora. Hildebrandt (1937), изучая самонагревание сена, установил, что термофильные плесени и актиномицеты могут вызывать самонагревание без бактерий. Опыты по самонагреванию сена (Hildebrandt, 1927) чистыми культурами термофильных микроорганизмов, ставившиеся при 40°, дали следующие результаты: чистая культура B. calfactor повышала температуру на 9°, комбинация B. calfactor и актиномицета на 17°. С термофильным актиномицетом опыт не удался из-за потери жизнеспособности чистых культур на питательном агаре. Hildebrandt также выделил из сена два термофильных лучистых гриба.

Торф. Биогенное саморазогревание торфяной крошки было показано Исаченко и Мальчевской (1936). Из самонагревающихся торфяных штабелей было выделено большое количество термофильных грибов и актиномицетов. Авторы считают, что термофильные актиномицеты тоже принимают участие в самонагревании торфа.

Сахар. В 1911 г. Schöne (1911), изучая случаи самонагревания в сахарном производстве, обнаружил термофильные актиномицеты в самонагревающихся массах полуфабриката сахара. Он считал, что термофильные актиномицеты принимают участие в самонагревании полуфабриката сахара, хотя ему не удалось доказать это определение.

Компосты и навоз. Участие термофильных актиномицетов в самонагревании навоза и компостов изучал Ваксман. Он показал высокую ферментативную активность термофильных актиномицетов при разложении растительных и животных остатков этих субстратов. Чистые культуры термофильных актиномицетов обладали меньшей активностью, чем смешанная популяция термофильных грибов, бактерий и актиномицетов.

Зерно. Исаченко и Ончукова (1934) вызывали самонагревание зерна выше 50° при помощи актиномицета. Применявшийся ими актиномицет был выделен из самонагревшегося зерна. Самонагревание в значительной степени зависело от влажности. Самонагревание хорошо

шло в стерильных сосудах, в 20—30 дней при влажности зерна 23%; при 17% влажности самонагревание, за тот же срок не наблюдалось.

Раутенштейн (1939 а), изучая микробиологические процессы при послеуборочном дозревании, сушке и хранении пшеничного зерна комбайновой уборки, наряду с другими микроорганизмами получал при 50° рост актиномицетов. В другой работе Раутенштейн (1939) нашел в пшенице Лютесценс 662, подвергшейся самонагреванию, термофильные актиномицеты. Автор заражал частично стерилизованное зерно в сосудах Дюара чистыми культурами предварительно выделенных актиномицетов и наблюдал самонагревание зерна до 47°. Им установлена определенная динамичность микрофлоры самонагревающегося зерна. По интенсивности размножения, термогенности и частоте нахождения в зерне первое место в этом процессе занимают плесневые грибки, затем актиномицеты и, наконец, спорогенные бактерии и микрококки.

Патогенность и антагонистические свойства термофильных актиномицетов

Патогенность. Многие исследователи, работавшие с термофильными актиномицетами, испытывали культуры термофильных актиномицетов на патогенность по отношению к различным лабораторным животным. Все испытанные термофильные актиномицеты оказались не патогенными. В 1927 г. Ascione (1927) изолировал из горячего источника термофильный актиномицет, названный им просто Streptothrix. Этот грибок начинает пышно расти при 45°, дает хороший рост через 30—40 час. в бульоне и на агаре при 55° и растет даже при 60°. При введении этого актиномицета в организм свинки, последняя погибала в течение 5—15 дней или позднее, при явлениях общего токсикоза. Предполагается, что это является следствием действия гемолитического яда.

Антагонистические свойства. Известно, что актиномицеты принадлежат к той группе микроорганизмов, среди которых наиболее широко распространены формы, обладающие антибиотической активностью. Несмотря на это, об антагонистических свойствах термофильных актиномицетов, а тем более об образовании ими антибиотических веществ в литературе нет специальных исследований; имеются только некоторые краткие косвенные указания на их антибиотическую активность. Так Lieske отмечает способность термофильных актиномицетов вызывать лизис мертвых бактериальных клеток, причем этим свойством обладали далеко не все исследованные культуры, активные культуры лизировали мертвых бактерий с разной интенсивностью.

В определителе Красильникова при описании одного вида термофильного актиномицета указывается, что его штаммы проявляют антагонистическое действие.

В книге Мишустина имеется указание, что в его лаборатории сотрудницей Пушкинской были выделены и изучены культуры антагонистически действующих термофильных актиномицетов. Отсутствие специальных исследований об антагонистических свойствах термофильных актиномицетов является существенным пробелом в изучении этой весьма интересной группы микроорганизмов.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 30.V.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

Берестнев Н. М. Актиномикоз и его возбудители. Москва, 1897.
Имшенецкий А. А. Микробиологические процессы при высоких температурах. Изд. АН СССР, 1944.
Имшенецкий А. А. и Авдиевич Н. М. Рост термофильных актиномицетов. Микробиология, XIII, 211, 1944.

Исаченко Б. Л. и Мальчевская Н. Н. Биогенное саморазогревание торфяной крошки. ДАН СССР, IV, 363, 1936.
Исаченко Б. Л., Ончукова М. и др. О самонагревании зерна. ДАН СССР. I, 507, 1934.
Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР, М. 1949.
Мишустин Е. Н. Термофильные микроорганизмы в природе и практике. Изд-во АН СССР, 1950.
Раутенштейн Я. И. Самонагревание пшеницы и роль микроорганизмов при этом процессе. Микробиология, VIII, 555, 1939.
Раутенштейн Я. И. Микробиологические процессы при послеуборочном дозревании, сушке и хранении пшеничного зерна комбайновой уборки. Микробиология, VIII, 555, 1939а.
Циклинская П. В. О микробах, живущих при высокой температуре. Русский архив патологии, **5**, 678, 1898.
Циклинская П. В. Sur la flore microbienne thermophile du canal intestinal de l'homme. Ann. Inst. Pasteur, **17**, 217, 1903.
Allen M. B. The dynamyc nature of thermophily. J. Gen. Physiol., **33**, 205, 1950.
Ascione G. A patogenic thermophilic Streptothrix. J. Amer. Med. Ass., **19**, 1729, 1927.
Bergey D. Thermophilic bacteria. J. Bact., **4**, 301, 1919.
Bergey's. Manuel of determinative bacteriology. Baltimore, 1948.
Bernstein A. a. Morton H. E. A new thermophilic actinomyces. J. Bact., **27**, 625, 1934.
Black L. a. Tanner F. A. A study of thermophilic Bacteria from the intestinal tract. Ztbl. Bact., 2. Abt., **75**, 360, 1928.
Bruini G. Über die thermophile Microbenflora des menschlichen Darmkanals. Ztbl. Bakt., I Abt., **38**, 177, 1905.
Eckford M. O. Thermophilic bacteria in milk. Amer. I. Hyg., **7**, 201, 1937.
Erikson D. Temperature/growth relationships of a thermophilic actynomycete, Micromonospora vulgaris. J. Gen. Microb., **6**, 286, 1952.
Gilbert A. Über Actinomyces thermophilus und andere Actinomyceten. Z. Hyg., **47**, 383, 1904.
Globig L. Über Bacterienwachstum bei 50 bis 70°. Z. Hyg., **3**, 294, 1888.
Hildebrandt F. Beiträge zur Frage der Selbsterwärmung Jes Heues. Ztbl. Bakt., 2. Abt., **71**, 440, 1927.
Katznelson H. Autolisis of a thermophilic actinomyces. Soil Sci., **49**, 83, 1940.
Kedzior D. Über eine thermophile Cladotrix. Arch. Hyg., **27**, 328, 1896.
Krohn V. Studien über thermophile Schizomyceten. Ann. Acad. Sci. Fennica (A), **21**, 125, 1923.
Lieske R. Morphologie und Biologie der Strahlenpilze. Leipzig, 1921.
Miehe H. Die Selbsterhitzung des Heus. Jena, 1907.
Miehe H. Die Wärmebildung von Reinkulturen im Hinblick auf die Atiologie der Selbsterhitzung pflanzlicher Stotte. Arch. Micr., **1**, 78, 1930.
Noak K. Beiträge zur Biology der thermophilen Organismen. Jahrb. Wiss. Bot., **51**, 593, 1912.
Sames T. Zur Kenntnis der bei höherer Temperatur wachsenden Bakterien- und Streptothrix-Arten. Z. Hyg., **33**, 313, 1900.
Schöne A. Was wissen wir über die Wärmeerzeugung durch Mikroorganismen und über deren Mitwirkung bei der Selbsterhitzung aufgahäufter organischer Massen, speziell von Produkten der Zuckerindustrie? Zuckerind., **36**, 609, 628, 632, 1911.
Schütze R. Beiträge zur Kenntnis der thermophilen Actinomyceten und ihrer Sporenbildung. Arch. Hyg., **67**, 35, 1908.
Velich A. Über thermophile Mikroorganismen. Ztbl. Bakt., 2. Abt., **44**, 174, 1916 (Refer.).
Waksman S. A. The actinomycetes. Waltham, Mass. USA. 1950.
Waksman S., Umbreit W. a. Cordon G. Thermophilic actinomycetes and fungi in soils and in composts. Soil Sci., **47**, 37, 1939.

ПРИОРИТЕТ РУССКИХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ В ВОПРОСАХ ХИМИЗМА СПИРТОВОГО БРОЖЕНИЯ

И. Л. Работнова

После открытия Пастером природы спиртового брожения как процесса жизнедеятельности дрожжей, следующим этапом в изучении спиртового брожения было доказательство возможности бесклеточного брожения. Брожение, осуществляемое препаратами, полученными из дрожжей, но не содержащими живых клеток, впервые наблюдала Манассеина в 1871 г. [1]. Однако это открытие прошло незамеченным и приоритет открытия бесклеточного брожения обычно неправильно приписывают Бухнеру, описавшему брожение дрожжевого сока в 1897 г.

Следующим крупным шагом вперед было открытие особой роли фосфора в процессе брожения. Часто в учебниках биохимии, а в зарубежных — всегда, честь этого открытия приписывается английским ученым — Гардену и Юнгу. Эти исследователи в 1905 г. открыли [2], что при прибавлении фосфатов к бродящему бухнеровскому дрожжевому соку скорость брожения быстро возрастает — иногда более чем в 20 раз. Опыты показали, что во время периода повышенного брожения, количества образовавшейся углекислоты и спирта превышали те, которые получались без добавления фосфата, на величину, эквивалентную количеству прибавленного фосфата. Следовательно, происходит химическая реакция, в которой участвуют сахар и фосфат. Далее Гарденом и Юнгом была разработана общеизвестная схема спиртового брожения, включающая образование фосфорных эфиров.

Между тем процесс фосфорилирования одновременно, даже немного ранее, и совершенно независимо от Гардена и Юнга был открыт и изучался русским исследователем Л. А. Ивановым и несколько позднее — А. Н. Лебедевым. Л. А. Иванов в одной из своих статей (1914) датирует свое открытие 1903 г.; опубликованы же эти данные впервые в 1905 г. в докторской диссертации. Л. А. Иванов в то время работал ассистентом в Петербургском Лесном институте и, интересуясь вопросами биохимии, изучал фосфорные соединения в растении. В своей докторской диссертации «О превращении фосфора в растении в связи с превращениями белков» он уже описал тот факт, что брожение дрожжей сопровождается синтетическим процессом образования органических фосфатов из неорганических.

«Было взято 2 пробы по 50 к. с. разболтанных прессованных дрожжей 2,6 гр. сухого веса. К одной пробе В прибавлено 10 гр. декстрозы и она поставлена на брожение при 25°, в другой, А, непосредственно произведено определение неорганических фосфатов. Для этого белковый фосфор был удален по способу Косселя (Kossel), а фильтрат осажден магнезиальной смесью. Через 2 дня такое же определение произведено в пробе В. Получилось прокаленного магнезиального остатка: в пробе А — 96,3 мг, в пробе В — 89,0 мг» [3].

---

[1] См. статью С. И. Винокурова и Р. В. Чаговец «Марья Манассеина и ее роль в открытии бесклеточного брожения», Биохимия, **15**, 558, 1950.

[2] Proc. Chem. Soc., **21**, 189, 1905 (предварительное сообщение).

[3] Цит. из диссертации «О превращении фосфора в растении в связи с превращениями белков», стр. 111.

Таким образом, количество неорганического фосфора при брожении уменьшается — он переходит в органические соединения.

Заинтересовавшись этим явлением, Иванов продолжил работу по изучению спиртового брожения. Далее работа велась уже с ацетоновым препаратом, зимином и с гефанолом (сухие дрожжи).

При брожении зимина еще раз было подтверждено исчезновение из раствора неорганического фосфора, а также обнаружено ускорение брожения при добавке фосфатов. Для регистрации ускорения брожения, вызываемого фосфатами, Ивановым был сконструирован оригинальный самописец. Колба, в которой шло брожение, соединялась с ртутным манометром с открытым коленом. На поверхности ртути в манометре плавала пробка с прикрепленной к ней проволокой, на которой укреплялось записывающее приспособление. На вращающемся барабане можно было получать кривые, отражающие динамику газовыделения. При брожении без фосфатов кривые получались почти горизонтальные, а при добавлении фосфата круто поднимались вверх (1909).

В поисках образующегося фосфорноорганического соединения Иванов провел обширные биохимические исследования и нашел, что фосфор соединяется с альдо- или кетогруппой (1907).

Фермент, катализирующий переход фосфора в органическое соединение, Иванов назвал синтеазой. Он предполагал, что фосфорноорганическое соединение есть триозофосфат. В этом он ошибался, так как позже стало известно, что это гексозодифосфат.

В этой же работе (1909) Ивановым было установлено стимулирующее действие на брожение фильтрата дрожжевого сока. Таким образом, и наличие кофермента было открыто независимо от Гардена и Юнга.

Заслугой Л. А. Иванова является и то, что он еще тогда же высказал мысль, что стимулирующее действие фосфата сводится к тому, что образуется соединение, способное к дальнейшим превращениям, и, таким образом, фосфорилирование — это промежуточная стадия брожения, через которую идет распад сахара.

Далее, над проблемой брожения много поработал А. Н. Лебедев.

Лебедев изучал брожение дрожжевого сока. Он обнаружил, что активный сок можно получить не только путем растирания дрожжей и выжимания из них сока под давлением, как это делал Бухнер, но и путем настаивания сухих дрожжей в воде с последующим фильтрованием. Получение сока таким способом несравненно проще, чем растирание и отжимание по Бухнеру, а сок получается не менее активный.

Этот метод получения активного сока нашел далее весьма большое распространение в лабораториях всего мира под названием получения «мацерационного сока Лебедева».

С этим ферментативным препаратом Лебедевым была проведена огромная работа по изучению химизма брожения. Результаты исследований печатались по частям в виде статей с 1908 г., а в 1913 г. вышла отдельная книжка, посвященная этому вопросу.

В этой работе Лебедевым открыты многие основные этапы брожения, которые вошли сейчас в общепризнанную схему спиртового брожения, носящую название «Новая схема Эмбдена — Мейергофа».

Прежде всего, Лебедев пришел к заключению, что зимаза — это комплекс ферментов, которые ведут брожение по принципу «разделения труда». Для того чтобы уловить промежуточные стадии, Лебедев пытался разделить смесь ферментов. Для разделения он применял ультрафильтрацию через желатиновые фильтры. Лебедев нашел, что сахара из среды исчезает больше, чем образуется углекислоты. Исчезновение сахара и выделение CO_2 — это два независимо протекающих процесса.

Им было выделено органическое соединение фосфора. Детальный биохимический анализ показал, что это дифосфорный эфир сахара, причем фосфорные радикалы стоят у 1 и 6 углерода.

Очень любопытно то обстоятельство, что взгляды Лебедева на коэнзим брожения опередили взгляды его современников. Он пишет в своей монографии, что коэнзим, по всей вероятности, играет роль передатчика водорода: «Он должен представлять из себя вещество крайне легко восстанавливающееся и столь же легко отдающее свой водород».

В результате тщательных исследований брожения Лебедев выработал схему брожения. Из всех остальных современных ей схем эта схема является наиболее близкой к установленному теперь механизму брожения.

Согласно взглядам Лебедева, сахар распадается на глицериновый альдегид и диоксиацетон. Глицериновый альдегид сбраживается в спирт и углекислоту через стадию пировиноградной кислоты, а диоксиацетон ресинтезируется в гексозу. В этот процесс ресинтеза Лебедев включает фосфорилирование.

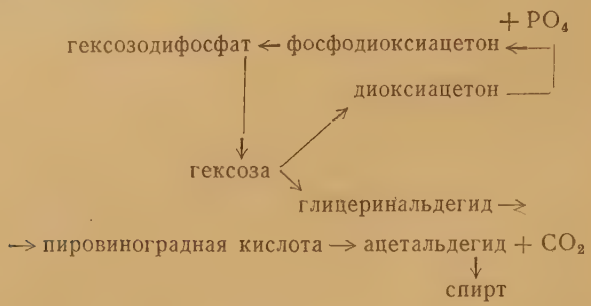


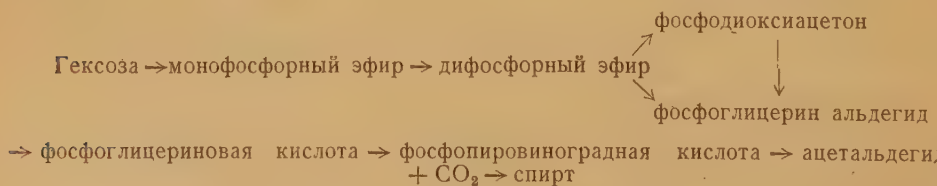
Схема Лебедева не нашла распространения в мировой литературе, да и в отечественной ей было уделено мало внимания.

Одновременно с работами Лебедева над вопросами химизма спиртового брожения в Германии работал Нейберг. Он также создал схему спиртового брожения. Она сформулирована им следующим образом:

Гексоза → 2 метилглиоксаль → пировиноградная кислота + глицерин

Глицерин образуется в небольшом количестве как побочный продукт, а пировиноградная кислота распадается с образованием ацетальдегида + + CO_2. Далее ацетальдегид вступает в реакцию Каницарро с молекулой метилглиоксаля, при этом ацетальдегид восстанавливается в спирт, а метилглиоксаль окисляется в пировиноградную кислоту, которая вновь дает ацетальдегид и CO_2.

Схема Нейберга получила чрезвычайно широкое распространение и в течение более чем 20 лет была общепризнанной, вошедшей в учебники биохимии во всех странах, и только в 30-х годах начала уступать место новой схеме Эмбдена — Мейергофа, в основном сохранившей свое значение до сих пор. Согласно этой схеме, ход распада сахара при спиртовом брожении в общем виде можно представить следующим образом:



Если мы сравним эти три схемы, то увидим, что схема Лебедева была ближе к современным представлениям, чем схема Нейберга с гипотетическим метилглиоксалем вместо двух триоз в качестве первого продукта расщепления сахарной молекулы. Те же триозы диоксиацетон и глицеринальдегид, которые впервые предложил Лебедев в качестве промежуточных продуктов, фигурируют в новой схеме. Также глицерин-

альдегид переходит в пировиноградную кислоту. Однако Лебедев не нашел правильного истолкования процесса фосфорилирования. Он полагал, что оно имеет значение для ресинтеза гексозы из диоксиацетона, тогда как теперь известно, что в процессе спиртового брожения фосфорилирование сопровождает распад сахара с самых первых его моментов и вплоть до пировиноградной кислоты.

Тем не менее следует признать, что исследования Лебедева были передовыми в свое время и заслуживали большего внимания, чем им было уделено тогда учеными.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова
Биолого-почвенный
научно-исследовательский институт

Получена 1.II.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

Иванов Л. (Iwanoff L.) Über das Verhalten der Eiweisstoffe bei der alkoholischen Gärung. Z. Phys. Chem., **42**, 464, 1904.
Иванов Л. О превращении фосфора в растении в связи с превращениями белков. Дисс., СПб., 1905.
Иванов Л. (Iwanoff L.). Über die Synthese der phosphororganischen Verbindungen in abtöten Hefezellen. Z. Phys. Chem., **50**, 281, 1907.
Иванов Л. (Iwanoff L.). Über einen neuen Apparat für Gärungsversuche. Ztbl. Bakt., 11, **24**, 429, 1909.
Иванов Л. (Iwanoff L.). Über die Bildung der phosphororganischen Verbindungen und ihre Rolle bei der Zymasegärung. Там же, стр. 1.
Иванов Л. Об участии фосфатов в спиртовом брожении. Сб. памяти Тимирязева, 1914.
Лебедев А. Химические исследования над внеклеточным спиртовым брожением. Новочеркасск, 1913.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Newton J. and Wilson P. **Nitrogen fixation and photoproduction of molecular Hydrogen by Thiorhodaceae.** (Фиксация азота и образование на свету молекулярного водорода Thiorhodaceae). Antonie Van Loeuwenhock, v. 19, No. 1. pp. 71—77, 1953.

Проведенные за последние годы исследования показали, что в группу фиксаторов азота должны быть включены все семейства фотосинтезирующих бактерий. Фиксация азота была установлена у многих представителей семейства Athiorhodaceae. Семейство Thiorhodaceae, представители которого явились объектом настоящего исследования, еще не было изучено в этом отношении. В работе использовались три штамма пурпурных серобактерий Chromatium sp. Для определения фиксации азота культуры выращивались в основном солевом растворе, не содержавшем источников азота, в закрытых эрленмейеровских колбах, заполненных изотопом азота (N^{15}) под давлением в 0,8 атм. После трехсуточного выращивания на свету клетки использовались для манометрических опытов, которые производились в микрореспирометре Варбурга, снабженном 60-ваттной лампой накаливания. Изотопные измерения производились в масс-спектрометре. Опыты показали, что изученные штаммы обладают азотфиксирующей способностью. Процесс идет на свету в условиях анаэробиоза. Пытаясь установить наличие связи между деятельностью нитрогеназы и переносом водорода, авторы ресуспензировали клетки в надосадочной жидкости от азотфиксирующей культуры. Образование водорода неотмытыми клетками происходило на свету в свободной от азота среде в атмосфере гелия. Отмытые клетки в фосфатном буфере, к которому добавлялись различные доноторы водорода, не выделяли молекулярного водорода. При добавлении в эту систему $NaHCO_3$ начиналось интенсивное образование газа; при помощи масс-спектрометра было показано, что этот газ представляет собой молекулярный водород. Таким образом, CO_2 или бикарбонат необходимы для образования водорода. Изучение условий подавления образования водорода на свету Chromatium показало, что молекулярный азот и аммиак полностью подавляют эту реакцию. Замещая азот гелием, можно прекратить подавление.

Представленные данные подтверждают положение о том, что фиксация азота и образование водорода на свету являются общими характерными свойствами фотосинтезирующих бактерий. Повидимому, фиксация азота связана с переносящей водород системой через образующийся аммиак. Эта система ответственна за освобождение молекулярного водорода, появляющегося в качестве продукта фотосинтеза. По мнению авторов, соединением, вовлекаемым в образование водорода на свету, может являться α-кетоглутаровая кислота или похожее, содержащее 5 углеродных атомов, соединение. Образующийся α-кетоглутарат является ключевым углеродным соединением, участвующим в биосинтезе аминокислот. Если Chromatium активно размножается, утилизируя азот или аммиак, то α-кетоглутарат употребляется для синтеза клеточных белков. В отсутствие азота α-кетоглутарат может служить предшественником образуемого на свету водорода. Можно предположить, что подавление образования водорода аммиаком происходит в участках синтеза аминогрупп. Для выяснения подлинного механизма необходимы дальнейшие исследования.

А. Кривиский

Mandels G. R. **The properties and surface location of an enzyme oxidizing ascorbic acid in fungus spores.** (Свойства и поверхностное расположение энзима грибных спор, окисляющего аскорбиновую кислоту). Arch. Biochem. a. Biophys., v. 42, No. 1, pp. 164—173, 1953.

Исследовались споры гриба Myrothecium verrucaria. Гриб культивировался на фильтровальной бумаге. Споры смывались водой или буферной смесью. Для исследований использовались неповрежденные споры и экстракт из спор. Экстракт из грибных спор готовился путем центрифугирования споровой суспензии, декантации жидкости и размельчения спор в течение 30 минут в особой мельнице при замораживании в ледяной ванне. После раздробления спор жидкость снова центрифугировалась и сохранялась в рефрижераторе.

Исследования спор Myrothecium verrucaria и экстракта из них показали, что суспензия из неповрежденных спор активно окисляет аскорбиновую кислоту. Энзим, осуществляющий окисление, концентрируется на поверхности спор и легко экстрагируется в жидкость при их размельчении, но не освобождается из неповрежденных спор в присутствии толуола или мертиолата. Этот энзим отличается от ранее описанных окислительных систем, окисляющих аскорбиновую кислоту, по своей резистентности к ингибиторам (KCN, азид натрия, 2,1-динитрофенол, NO_2S) и специфичностью своего действия.

Споровая суспензия, содержащая 10,4 мг спор в фосфатном буфере при pH = 6,25, окисляет в течение 160 минут 4 мг аскорбиновой кислоты, потребляя при этом 267 мг кислорода.

Изучаемый фермент по своему окислительному действию отличается от цитохромоксидазы, тирозиназы, пероксидазы и лакказы, окисляя аскорбиновую кислоту и ее соли непосредственно.

Е. Рубан

Kaufmann W. **Untersuchungen über den Energiehaushalt der Hefezelle und die Ökonomie einiger Energiestoffwechseltypen anderer Mikroorganismen.** (Исследования об энергетической экономии дрожжевой клетки и экономии энергии некоторых типов обмена веществ других микроорганизмов). Arch. Mikrob., Bd. 17, S. 319—352, 1952.

Изучались химические и химико-физические факторы, являющиеся мерилом экономического коэффициента (Э. К.), а также процессы обмена веществ микроорганизмов при некоторых аэробных и анаэробных условиях. В работе учитывались тепловая реакция (ΔH) и свободная энергия (ΔF). Сравнивались величины Э. К. одних и тех же организмов, выросших в аэробных и анаэробных условиях. Для определения сухого вещества культура фильтровалась через мембранные фильтры и высушивалась при 100—105°. Для удаления труднорастворимой соли, иногда выпадающей в бактериальной культуре при сдвиге pH в щелочную сторону, вся культура подкислялась лимонной, уксусной или фосфорной кислотами, добавление которых в незначительных количествах не влияет на сухой вес организмов. Источником энергии служили: глюкоза, мальтоза, молочная и лимонная кислоты. Определение глюкозы проводилось по Бертрану, молочной кислоты — по Фридеманну, Контонио, Шаффер, лимонной кислоты — по Котану. Исследования проводились с дрожжами Frohberg и Torulopsis utilis для выяснения следующих вопросов: 1) влияние концентрации факторов роста (биотин, инозит, пиридоксин и β-аланин) на Э. К.; 2) зависимость Э. К. от возраста культур; 3) зависимость Э. К. от концентрации глюкозы и температуры; 4) влияние энзимтормозящих веществ (KCN, NaF, Na_2SO_3) на Э. К.; 5) Э. К. в культурах с большими посевами и энергетические функции резервных веществ гликогена; 6) влияние крайних температур для понимания остановки роста с энергетической точки зрения; 7) влияние кислорода на Э. К. дрожжей Frohberg; 8) Э. К. при аэробных и анаэробных условиях; 9) влияние концентрации водородных ионов на Э. К. дрожжей в аэробных и анаэробных условиях. Кроме того, проводилось изучение некоторых процессов брожения: спиртовое брожение проводилось Pseudomonas Lindneri, молочнокислое брожение Bact. Delbrückii и маслянокислое Bacillus amylobacter. Результаты опытов показали, что концентрация ускоряющих рост веществ, количество посева, CO_2 и давление не влияют на Э. К. дрожжей Frohberg при аэробных условиях. Э. К. повышается с увеличением возраста культур и затем остается постоянным. Зависимость Э. К. дрожжей Frohberg от концентрации глюкозы и температуры выражается кривыми, отображающими результаты влияния различных соотношений интенсивности обмена энергии и обмена веществ за единицу времени. При добавлении энзимтормозящих веществ (NaF, монохлоруксусной кислоты) происходит повышение Э. К., которое приводит к замедлению скорости брожения. Отсутствие или незначительное образование гликогена у дрожжей Frohberg оказывает неблагоприятное влияние на Э. К. При аэробных условиях в молодых культурах Э. К. вначале круто повышается и затем быстро падает. При глицериновом брожении отношение данного Э. К. к Э. К. нормальной культуры соответствует значению тепловой реакции ($\triangle H$). Спиртовое брожение с Pseudomonas Lindneri, маслянокислое брожение с Bac. amylobacter и молочнокислое брожение с Bact. Delbrückii протекают при значительно меньшем Э. К. по сравнению с дрожжами. Возможно, что бактерии требуют большего уровня энергии, чем дрожжи. На основании своих экспериментальных данных и теоретических рассуждений автор дает схему применения свободной энергии, образованной при окислительных процессах обмена веществ у микроорганизмов.

И. Вайсфельд

Starr M. and Saperstein S. **Tiamine and the carotinoid pigments of Corynebacterium poinsettiae.** Тиамин и каротиноидные пигменты Corynebacterium poinsettiae. Arch. Bioch. a. Biophys., v. 43. No. 1, pp. 157—167, 1953.

Corynebacterium poinsettiae образует красный или оранжево-желтый пигмент в зависимости от состава среды.

Тиамин является совершенно необходимым веществом для роста культуры и ее пигментообразования.

Культура выращивалась на среде, содержащей в процентах 0,1 кислого гидролизата казеина, 0,5 K_2HPO_4; 0,5 KH_2PO_4; 0,01 цитрата натрия; 0,02 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,1 мг кальциевой соли пантотеновой кислоты; 0,1 мг биотина и следы микроэлементов; pH среды = = 6,6. Основная среда стерилизовалась в литровых склянках. Глюкоза, простерилизованная отдельно, добавлялась в количестве 0,5%. Тиамин стерилизовался автоклавированием в растворе при pH-4,5. Культуры выращивались в течение 7 дней при 30° на качалках при 120 оборотах в минуту. Клетки отделялись от жидкости центрифугированием при 50 000 оборотах в минуту. Для получения красного пигмента нужно было добавить 1 мг тиамина на 100 мл среды, для получения оранжево-желтого пигмента прибавлялось 100 мг тиамина на 100 мг среды.

Из центрифугированных клеток пигменты извлекались петролейным эфиром, диацетоном со спиртом, гексаном, метанолом, бензином и хлороформом и исследовались хроматографированием в колонках с магнезией и карбонатом кальция.

Было обнаружено, что клеточные пигменты состоят из спириллоксантина, неоспириллоксантина, липоксантина, криптоксантина, ликопина и ряда пендентифицированных пигментов.

Содержание этих пигментов в клетках зависит от количества тиамина в среде.

Тиамин в мг на 100 мл среды	Пигменты в мг на 10 г сухих клеток		
	спирилл-оксантин	крипто-ксантин	липоксан-тин
0,1	350	0	200
100,0	100	1130	300

При повышении содержания тиамина в среде количество криптоксантина и липоксантина возрастает, а количество спириллоксантина падает, культура при этом образует оранжево-желтый пигмент.

По всей вероятности, тиамин участвует в биосинтезе каротиноидов Corynebact. poinsettiae.

Е. Рубан

Gilvard C. and Bloch K. **Utilisation of glucose-*l*-C^{14} for the synthesis of phenilalanine and tyrosine.** (Усвоение глюкозы-*l*-C^{14} для синтеза фенилаланина и тирозина). Journ. Biol. Chem., v. 199, No. 2, pp. 689—698, 1952.

Исследовался механизм биосинтеза фенилаланина и тирозина дрожжевыми клетками при развитии в среде, содержащей в качестве основного источника углерода меченую глюкозу (глюкоза — *l*-C^{14}). Из развившихся дрожжей изолировались фенилаланин и тирозин, в продуктах химического разложения которых изучалось распределение изотопов. Опыты показали, что изотопное содержание боковых цепей, синтезируемых дрожжами из глюкозы-*l*-C^{14} фенилаланина и тирозина, соответствует ожидаемому содержанию изотопов в триозе. Это позволило авторам выдвинуть предположение, что боковые цепи этих аминокислот образуются из трехчленных углеродных продуктов гликолиза, а Р-углерод боковых цепей происходит из C_1 или C_6 глюкозы. Было установлено также, что только 3—4% общей радиоактивности тирозинового кольца относятся к 1,3 и 5-углеродным атомам. Это позволяет считать, что меченые углеродные атомы находятся в положениях 2,4 и 6. Дальнейшее исследование радиоактивности этих атомов в фенилаланине (который более доступен исследованию, чем тирозин) показало, что в C_4 содержится только 10% общей радиоактивности кольца, а в C_2 и C_6 (эти атомы не могут быть различены между собой в силу их симметричного положения) находится 73% общего C^{14}.

На основании полученных экспериментальных данных авторы обсуждают возможные механизмы образования 6-членного кольца. По мнению авторов, следует исключить следующие механизмы синтеза кольца, как не отвечающие результатам изотопного анализа: 1) конденсация трех двууглеродных остатков, 2) синтез кольца из промежуточных продуктов цикла лимонной кислоты, 3) конденсация двух одинаково изотопных триоз, 4) прямая циклизация глюкозы. Авторы не исключают возможности синтеза кольца путем конденсации одной триозы, обладающей одиночно меченым углеродным атомом с продуктами метаболизма глюкозы, не содержащими изотопов.

А. Кривиский

Bartholomew W. V. and Norman A. G. **Microbial thermogenesis in the decomposition of plant materials. IV. Influence of moisture content and of initial temperature.** (Микробиальный термогенезис при разложении растительных материалов. IV. Влияние влажности и начальной температуры). J. Bact., v. 65, No. 3, pp. 228—232, 1953.

Работа была предпринята с целью выяснить влияние степени влажности и начальной температуры на скорость процесса саморазогревания овсяной соломы.

В статье дается схема и описание установки, в которой возможно, поддерживая определенную влажность и создав нужную начальную температуру, регистрировать дальнейшие температурные изменения в гниющей соломе, а также учитывать количество выделяемой углекислоты.

Аппарат, сконструированный авторами, состоит из контейнера для исследуемого материала, заключенного в водяную баню, температура которой регулируется очень точно. Контейнер снабжен прибором, автоматически регистрирующим температуру, соединен с воздухонагнетающим насосом, который подает воздух увлажненный и освобожденный от углекислоты, и с приемником для углекислоты.

Выяснилось, что начальная температура, до которой была нагрета солома, имеет решающее значение, при прочих равных условиях, для характера температурной кривой, связанной с процессом гниения.

Быстрое повышение температуры гниющей соломы начинается через 16, 10 и 6 часов при начальных температурах 20, 25 и 30°. При более низких начальных температурах период инкубации удлиняется. Авторы считают, что удлинение времени инкубации приводит к истощению легкоусваиваемых веществ и, следовательно, к понижению микробной активности.

Наиболее быстрое повышение температуры происходит около 40°.

Замечено, что доминирующая флора зависит от скорости температурных изменений и смена ее происходит особенно быстро при переходе температуры от оптимальной для мезофильных форм к оптимальной для термофильных.

Опыты с чистыми и со смешанными культурами показали, что характер температурных кривых почти одинаков, хотя при применении чистой культуры саморазогревание идет медленнее.

Наблюдалась прямая зависимость между повышением температуры и выделением углекислоты.

Изменение содержания воды от 75 до 275 г на 100 г сухого вещества, при начальной температуре 25°, не оказывает заметного действия на дальнейшее повышение температуры. Наиболее быстрый подъем температуры происходит при увлажненности, несколько меньшей, чем 275 г воды, на 100 г сухого вещества, которая считается оптимальной для биологических процессов.

Н. Заварзина

Berger H. and Wyss O. **Studies on bacterial resistance to inhibition and killing by phenol.** (Изучение бактериальной резистентности к подавляющему и убивающему действию фенола). J. Bact., v. 65, No. 1, pp. 103—109, 1953.

Были селекционированы штаммы Micrococcus pyogenes, резистентные к бактериостатическому действию фенола в пределах от 0,2 до 0,3%. Получение резистентных штаммов осуществлялось методом последовательных пересевов на мясо-пептонный агар с добавлением к нему перекристаллизованного фенола в возрастающих количествах. Температура культивирования 37°. Предварительно подвергнутый действию фенола резистентный к фенолу штамм обнаруживал бо́льшую устойчивость к бактерицидным концентрациям фенола, чем дикий штамм или резистентный штамм, но выдержавший несколько пассажей на МПБ без фенола.

Резистентность к фенолу селекционируемых штаммов сохранялась в течение 40 пассажей на МПБ.

Адаптации диких штаммов к субингибирующим концентрациям фенола не происходило. По морфологическим и биохимическим признакам резистентные и нерезистентные к фенолу штаммы оставались довольно близкими друг к другу.

Е. Рубан

Lagerborg V. and Clapper W. **Amino acid decarboxylases of lactic acid bacteria.** (Декарбоксилазы аминокислот молочнокислых бактерий). J. Bact., v. 63, No. 3, pp. 393—397, 1952.

Изучалась активность декарбоксилаз в отношении разложения 6 аминокислот (*L*-аргинина, *L*-глутаминовой к-ты, *L*-гистидина, *L*-лизина, *L*-орнитина, *L*-тирозина) различными молочнокислыми бактериями. Исследовались 33 штамма молочнокислых бактерий, изолированных из слюны, 1 штамм Lactobac. casei, 1 штамм Lactobac. arabinosus и 4 штамма Streptococcus mitis. Активность декарбоксилаз определялась по вы-

ходу CO_2 в аппарате Варбурга. Опыты показали, что из 33 штаммов молочнокислых бактерий 12 продуцировали CO_2 из аргинина, 3 — из глутаминовой кислоты, 1 — из гистидина и 1 — из орнитина. 11 из 12 штаммов, разлагавших аргинин, принадлежали к одному и тому же типу молочнокислых бактерий (согласно исследованиям авторов, все молочнокислые бактерии могут быть разделены на три типа соответственно их отношению к сахарам). Выделяемый ими фермент, вероятно, является дигидролазой. Повидимому, все штаммы этого типа лишены настоящей дегидразной активности.

4 штамма Str. mitis почти совсем не продуцировали CO_2 из 6 исследованных аминокислот. После приучения этих штаммов к сульфатиазолу они начали продуцировать CO_2 из аргинина и тирозина. Теми же свойствами обладали 2 штамма энтерококков (Str. faecalis, микроорганизма, как известно имеющего ряд общих признаков с сульфамидоустойчивыми вариантами Str. mitis).

А. Кривиский

French R., Graham A., Lesley S. and van Rooyen C. **The contribution of phosphorus from T_{2r}+ bacteriophage to progeny.** (Переход фосфора от бактериофага T_{2r}+ в его потомство). J. Bact., v. 64. No. 5, pp. 597—607, 1952.

Ранее было показано, что около 35% фосфора из инфицирующего бактериальные клетки фага переходит в его потомство. В настоящей работе, путем искусственного преждевременного разрыва множественно и единично зараженных радиоактивным фагом клеток кишечной палочки, удалось показать, что переход «родительского» фосфора в «потомство» заканчивается уже через 22 минуты от момента заражения, т. е. к тому сроку, когда внутри клетки сформировалось не более $^1/_4$ окончательного урожая бактериофага. Остальные $^3/_4$ фагового потомства совершенно лишены родительского фосфора. После повторной инфекции радиоактивным фагом T_{2r}+ клеток, уже зараженных нерадиоактивным фагом, в потомстве обнаруживается тем больше родительского фосфора, чем раньше производилось повторное заражение. Если период между первичным и вторичным заражением превышает 5 минут, то в потомство переходит менее 1—2% фосфора фага, послужившего для вторичного заражения. После одновременного заражения нормальным нерадиоактивным и инактивированным ультрафиолетом радиоактивным фагом в потомстве открывается до 20% радиоактивного фосфора. Если инактивированный фаг добавляется через 6 или 11 минут после необлученного живого фага, то в потомство переходит 3—5% P^{32}. После повторного заражения радиоактивным фагом T_{2r}+ клеток, ранее инфицированных серологически и биологически отдаленными фагами T_1 или T_7 в потомстве, представляющем собой соответственно T_1 или T_7, определяется небольшое количество фосфора фага T_{2r}+. Эти опыты приводят авторов к заключению, что фосфорные соединения, входящие в состав родительских фаговых корпускул, не имеют значения для передачи наследственных свойств фаговому потомству.

А. Кривиский

Watson J. and Maaløe. **Nucleic acid transfer from parental to progeny bacteriophage.** (Переход нуклеиновой кислоты от «родительского» фага к его «потомству»). Biochimica et Biophysica Acta, v. 10, No. 3, pp. 432—442, 1953.

В настоящей работе, в отличие от ранее проведенных исследований по этому вопросу, были соблюдены следующие необходимые условия: адсорбция меченых фаговых частиц на клетках завершалась в течение первых двух минут после заражения, и фаговое «потомство» предохранялось от адсорбции на образующихся после лизиса бактериальных остатках. Такая постановка опытов дала возможность установить, что переход меченого фосфора от «родительского» фага к его «потомству» достигает 50% для фагов T_2 и T_4 и 40% для фага T_3. В тех же размерах осуществляется и переход меченых (C^{14}) пуринов. Это показывает, что пуриновые основания и фосфор переходят в фаговое потомство в виде нуклеотидов или более высокомолекулярных соединений. После лизиса 5—10% фосфора исходного фага остается связанным с бактериальными остатками. По мнению авторов, эта фракция относится к тем фаговым частицам, которые остаются пассивно прикрепленными к бактериальной поверхности и не участвуют в репродукции. Если после первичной двухминутной адсорбции вторично адсорбировать на клетке изотопный фаг, то в потомство переходит весьма незначительное количество фосфора. 50% фосфора поздно адсорбированных частиц остается в продуктах бактериального лизиса. Остальная часть через несколько минут после адсорбции появляется в питательной среде в виде растворимых в 5%-ной трихлоруксусной кислоте веществ. Более 95% P^{32} рано адсорбировавшихся частиц остается в клетке до момента лизиса. Бо́льшая часть переходящего в «потомство» P^{32} включается в ранее формирующиеся фаговые частицы. Увеличение урожая фага в 2—3 раза, осуществляемое путем искусственной задержки лизиса, не отражается на количестве переходящего в «потомство» фосфора. Неспособный к репродукции меченый фаг (поврежденный облучением рентгеном или исключаемый одновременным присутствием неродственного фага) после одномоментной адсорбции с активным фагом отдает часть своей нуклеиновой кислоты «потомству». Это показывает, что фаговые частицы сильно разрушаются после адсорбции. Поскольку в этих случаях переход фагового вещества в

потомство совершается в ненормальных условиях, авторы не считают доказанным, что фосфорные соединения (нуклеиновые кислоты) всегда переходят от «родительского» фага в его «потомство» в виде сильно разрушенного материала.

А. Кривиский

Northrop J. **Growth and phage production of Bac. megatherium.** (Размножение и образование фага у Bac. megatherium). J. Gen. Physiol., v. 36, No. 4, pp. 581—599, 1953.

Лизогенный штамм Bac. megatherium продуцирует 2 типа фагов: Т и С. Т-фаг образует мутные стерильные пятна и при соединении с фагочувствительным штаммом. Bac. megatherium вызывает образование лизогенных культур. С-фаг появляется редко, образует прозрачные стерильные пятна, не образует лизогенных штаммов, всегда вызывая полный лизис фагочувствительных культур. Если С-фаг добавляется к культуре фагочувствительного штамма и смесь оставляется при комнатной температуре или культивируется в висячей капле, то зараженные клетки перестают размножаться и полностью лизируются через 60—80 минут, освобождая 50—200 фаговых частиц на клетку. Если же С-фаг добавляется к интенсивно размножающейся культуре и суспензия перемешивается при 34°, то клетки продолжают делиться в течение 50—60 минут, затем лизируются и освобождают от 1000 до 2500 фаговых частиц на клетку.

На разных этапах размножения фагочувствительных клеток, развивавшихся в 5%-ном пептоне, были произведены следующие определения: 1) скорость размножения зараженных и нормальных клеток; 2) содержание в клетках белка, рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислоты; 3) объем клетки; 4) урожай фага на клетку; 5) продолжительность лизиса. Исследования показали, что при повышении концентрации клеток скорость размножения падает. Продолжительность лизиса и количество белкового азота на клетку не зависят от скорости размножения. Все остальные величины при увеличении скорости размножения повышаются. Отношение произведения количества рибонуклеиновой кислоты на клетку на время генерации к количеству белкового азота на клетку является почти постоянной величиной. Количество рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислоты на клетку увеличивается медленнее, чем объем клетки; таким образом, количество нуклеиновой кислоты на единицу объема падает при увеличении размеров клетки. Урожай фага в размножающихся клетках повышается быстрее, чем размеры клеток. Для изменения урожая фага определяющим фактором является скорость размножения клеток, которая зависит от состава среды.

Размножение и продукция фага у Bac. megatherium изучались в присутствии 25 различных антибиотиков, спиртов и других подавляющих клеточное размножение соединений. Оказалось, что та наименьшая концентрация применяемого препарата, которая полностью подавляла размножение клеток, являлась вместе с тем наиболее низкой концентрацией, полностью подавлявшей продукцию фага. Исключение представлял собой антибиотик Мегск, АВ81, который вызывал повышенную продукцию фага в концентрации, полностью подавлявшей размножение, определяемое по нарастанию мутности. Малые дозы ультрафиолетовых лучей уменьшали скорость размножения и увеличивали продукцию фага. Большие дозы, полностью подавлявшие размножение, вызывали лизис и освобождение фага.

А. Кривиский

Groman N. B. **The relation of bacteriophage to the change of Corynebacterium diphteriae from avirulence to virulence.** (О связи между бактериофагом и превращением авирулентного варианта Corynebacterium diphteriae в вирулентный). Science, v. 117, No. 3038, pp. 297—299, 1953.

Ранее было показано, что после взаимодействия специфического фага с фагочувствительным авирулентным штаммом Corynebact. diphteriae возникает вирулентный (продуцирующий токсин) лизогенный вариант, выделяющий фаг, растворяющий исходный авирулентный штамм (Freeman. J. Bact., 61, 675, 1951).

Автором было предложено два возможных объяснения этому процессу: а) в авирулентной культуре независимо от фага развивается вирулентный мутант, который селекционируется под влиянием фага; б) заражение авирулентной клетки фагом и превращение ее в лизогенную изменяет клеточный метаболизм, в результате чего клетка начинает продуцировать токсин.

В настоящем сообщении представлены экспериментальные данные, подтверждающие вторую гипотезу: из смеси клеток авирулентного штамма с бактериофагом через различные промежутки времени высевались пробы, в которых при помощи дифференциальной среды подсчитывалось количество авирулентных и вирулентных колоний. Была определена также продолжительность деления клетки вирулентного штамма, которая оказалась равной 51 минуте. Подсчеты показали, что за двухчасовый период (с 3 час. 45 мин. до 5 час. 45 мин. от начала опыта) количество вирулентных клеток увеличилось с 640 до 23 000 в 1 мл. Если бы это увеличение шло за счет размножения предсуществовавших вирулентных клеток, то число вирулентных клеток в 1 мл должно

было равняться 3300. В другой серии опытов смесь клеток авирулентного штамма с фагом в бульоне инкубировалась при 37° в течение получаса. Затем смесь сильно разводилась и засевалась на плотную дифференциальную среду. Во всех опытах концентрация фага на чашке была так мала, что контакт фаговой частицы с развивающейся колонией исключался. В результате 0,1—4,9% зараженных фагом клеток развивались в вирулентные колонии. На контрольных чашках вирулентных колоний не было обнаружено. Эти опыты показывают, что под влиянием фага вирулентные колонии не селекционируются, а возникают вновь. Была сделана попытка определить природу индуцирующего вирулентность начала. Если трансформирующее вещество является растворимой дезоксирибонуклеиновой кислотой и освобождается при изготовлении препарата фага, то оно должно разрушаться после обработки фагового препарата кристаллической дезоксирибонуклеазой. Оказалось, что обработанный таким образом фаг сохраняет способность к превращению авирулентных клеток в вирулентные. Автор предполагает, что фаг, соединяясь с клеткой, изменяет ее обмен таким образом, что клетка начинает продуцировать токсин.

А. Кривиский

E. Wilson, H. A. Stout, D. Powelson and H. Koffler. **Comparative biochemistry of the hydrogen bacteria. I. The simultaneous oxidation of hydrogen and lactate.** (Сравнительная биохимия водородных бактерий I. Одновременное окисление водорода и лактата). J. Bact. v. 65, № 3, pp. 283—287, 1953.

До недавнего времени считалось, что присутствие органического вещества в культуре водородных бактерий задерживает окисление водорода растущими клетками. В настоящей работе приводятся экспериментальные данные о том, что Hydrogenomonas facilis, относящийся к водородным бактериям, является факультативным автотрофом. Авторами получен материал, который подтверждает возможность одновременного окисления водорода и органического вещества этим организмом. Чистая культура Hydrogenomonas facilis была выделена из одной клетки с помощью микроманипулятора. Основная минеральная солевая среда имела следующий состав: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,2 г; NaCl 0,2 г; $NaHCO_3$ 0,7 г; KH_2PO_4 1,0 г; NH_4Cl 1,0 г; $FeCl_3$ 2,0 мг на литр трижды перегнанной дестиллированной воды. Для автотрофного роста бактерий среда помещалась в двухлитровую колбу и заражалась культурой Hydrogenomonas facillis. Затем колба заполнялась газовой смесью из 50% H_2, 40% воздуха и 10% CO_2. При гетеротрофных условиях развития культуры к основной среде добавлялся органический субстрат, причем опыты велись в атмосфере воздуха или же смеси газов, состоящей из 90% N_2, 5% O_2 и 5% CO_2. Для того чтобы убедиться в том, что клетки Hydrogenomonas, выращенные как в автотрофных, так и в гетеротрофных условиях, являются факультативными по отношению к источникам питания, был проведен количественный учет бактерий на гелевых и агаровых пластинках. При автотрофном культивировании бактерий к основной минеральной среде добавлялось 2% промытого агара и 5 г на литр $(NH_4)_2SO_4$ вместо NH_4Cl. В гетеротрофных культурах агаровая среда имела тот же солевой состав, а в качестве органического вещества добавлялось 0,5% пептона. Одновременно эти среды были приготовлены с кремневым гелем. Чашки Петри с автотрофными культурами помещались в эксикатор, который заполнялся газовой смесью из водорода, углекислоты и воздуха. Культуры инкубировались при комнатной температуре или при 26° в течение двух-трех дней. Количественный учет бактерий на чашках показал, что суспензии клеток, которые были использованы в опытах по изучению окисления водорода и лактата, состояли из факультативных организмов, а не из смеси автотрофных и гетеротрофных клеток. Для проведения основных опытов бактериальные клетки центрифугировались при 4°, отмывались и вновь взбалтывались в $^1/_{30}$ молярном буферном растворе Зёренсена при pH = 7,1. Потребление водорода и кислорода этими суспензиями определялось манометрически. Как правило, в сосуды вводилось по 2,5 мл суспензии клеток в буферном растворе Зёренсена и 0,5 мл буфера или 0,5 мл субстрата в буфере. Опыты велись при 30°. Манометрическая система, в которой определялось окисление водорода, эвакуировалась и промывалась газовой смесью, содержащей 75% H_2 и 25% воздуха. Лактат вводился в сосуды через боковой отросток. Опыты заканчивались путем погружения сосудов в баню с ледяной водой. Определение лактата производилось методом Баркера и Суммерсона. Потребление кислорода за счет органических веществ самой клетки, а также за счет органического вещества субстрата, проводилось в атмосфере, содержащей 75% N_2 и 25% воздуха. Бактериальные клетки Hydrogenomonas facilis, взвешанные в фосфатном буфере, окисляли водород и лактат одновременно. Клетки, выращенные автотрофно, окисляли водород с очень большой скоростью. Если же опытные культуры были получены при гетеротрофных условиях в атмосфере воздуха на минеральной среде с органическим субстратом или на пептонном бульоне, то они не окисляли водорода, в то время как на лактате они вели этот процесс активно. Гидрогеназная активность гетеротрофных клеток при выращивании культуры в условиях пониженного напряжения кислорода была почти такой же, как и у автотрофных клеток.

Характер кривых окисления водорода и лактата суспензиями Hydrogenomonas facilis показывает, что количество потребленного газа культурой было наибольшим, когда к культуре добавлялся одновременно водород и лактат. Почти также интенсивно шло потребление газа при введении в культуру водорода, но без органического веще-

ства. Когда к культуре добавлялся только лактат, количество потребленного газа было сравнительно небольшим. Полученные данные подтверждают наблюдения Kluyver и Manten о том, что в неразмножающихся клетках Hydrogenomonas гидрогеназа функционирует одновременно с энзимами, которые осуществляют окисление органических субстратов. Авторы полагают, что одновременное окисление водорода и лактата указывает на то, что окисление водорода катализируется специальной системой, которая является самостоятельной каталитической системой, совершенно отличной от каталитической системы, участвующей при окислении органического вещества.

В. Экзерцев

High yields of vitamin B_{12} possible with new industry method. (Новый промышленный способ получения витамина B_{12}, обеспечивающий высокий выход). The butter, cheese and milk products, v. 43, № 5, p. 62, 1952.

Новый способ получения высоких количеств витамина B_{12} основан на применении пропионовокислых бактерий для сбраживания питательных сред, содержащих снятое молоко и сыворотку. Были использованы обычные пропионовокислые бактерии, применяемые в производстве швейцарского сыра.

Было установлено, что различные виды пропионовокислых бактерий, обнаруживаемые в первый период созревания швейцарского сыра, способны образовывать витамин B_{12}. Кроме образования витамина B_{12}, новый ферментативный процесс позволяет получить пропионовую кислоту, соли которой предупреждают рост плесени на хлебе и других пищевых продуктах. Были установлены также условия, необходимые для получения высоких выходов витамина B_{12}. Такими условиями являются: добавление молочной кислоты к сбраживаемой среде и точное регулирование содержания кислорода во время брожения.

В сыворотку и другие молочные продукты или другие естественные среды, содержащие сахар, добавление молочной кислоты не требуется, так как она образуется путем сбраживания сахаров молочнокислыми бактериями.

В предварительных исследованиях с питательными средами пропионовокислое брожение дало выход 1.400μ г B_{12} из кварты (около 1.500μ г витамина B_{12} из литра). Это превосходит выход, полученный с другими микроорганизмами и на других средах, которые применяются в данное время в промышленности.

Новый процесс ферментации открывает возможность не только получения кристаллического витамина B_{12} из побочных молочных продуктов, но он может быть также применен для повышения содержания витамина B_{12} в таких молочных продуктах, как швейцарский сыр и кисломолочные продукты.

Путем небольших изменений технологического процесса удалось повысить содержание витамина B_{12} в швейцарском сыре примерно в три раза.

Н. Белоусова

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве. Труды конференции по микробиологии 1950 г. Изд. АН СССР, М., 1952, стр. 173. Цена 10 руб. Тираж 1500.

Виноделие и виноградарство являются одной из важнейших отраслей пищевой промышленности Советского Союза и играют значительную роль в экономике нашего народного хозяйства. Дальнейшее ее развитие и реконструкция тесно связаны с широким развертыванием научно-исследовательской работы в области изучения дрожжевых организмов, возбудителей заболеваний вина и виноградной лозы и микробиологических процессов, протекающих в почвах виноградников. Вопросы направленного воспитания и селекции дрожжевых организмов в целях получения штаммов, наиболее пригодных для разнообразных условий производства, вопросы разработки методов хранения чистых культур, предохраняющих их от вырождения, определение функционального состояния дрожжевой культуры в процессе брожения, борьба с болезнями вина микробного происхождения, микробиологический контроль производства, взаимодействие почвенной микрофлоры с виноградной лозой — вот тот далеко неполный перечень проблем, решать которые должны микробиологи винодельческой промышленности.

Периодический созыв конференций по микробиологии виноделия и виноградарства, начало которым было положено конференцией, состоявшейся в 1950 г. во Всесоюзном научно-исследовательском институте виноделия и виноградарства «Магарач» при участии ведущих специалистов-микробиологов Советского Союза, несомненно, будет иметь большое значение для успешного развития научно-исследовательской и практической работы по микробиологии виноделия и виноградарства.

Особенно важным является опубликование в печати материалов таких конференций в виде отдельных сборников, представляющих собой по сути дела сводку современного состояния вопроса. Такие сборники могут служить полезным пособием для специалиста, работающего в этой области.

Ценность напечатанных в рецензируемом сборнике статей заключается также в том, что по своему научному значению они далеко выходят за пределы обсуждавшихся на конференции специальных вопросов микробиологии виноделия и виноградарства и представляют большой интерес для широкого круга микробиологов и биологов.

Сборник состоит из вводной части и трех разделов. В вводной части помещены статьи, подводящие итоги проделанной советскими микробиологами работы в области виноделия и виноградарства и намечающие конкретные задачи дальнейших исследований в этой области. Первый раздел посвящен принципам и методам производственного отбора и селекции микроорганизмов, второй — касается функциональной морфологии дрожжевых организмов и современных методов их исследования, и, наконец, в третьем разделе помещены статьи о роли микроорганизмов в повышении урожайности растений.

Из материалов вводной части представляет интерес статья Н. С. Охременко (Всес. научно-иссл. ин-т виноделия и виноградарства «Магарач»), в которой автор подробно разбирает задачи, стоящие перед микробиологом в области виноделия белых и красных сухих, шампанских, десертных и крепких вин. Производство того или иного типа вина связано с определенным технологическим процессом, в связи с этим различны и требования, предъявляемые к дрожжевым организмам — возбудителями спиртового брожения. Несмотря на краткость статьи, в ней представлены основные вопросы микробиологии виноделия, чем она может быть весьма полезной для микробиолога, начинающего специализироваться в области виноделия. В этой же части сборника помещена статья Н. Ф. Саенко «Работа института «Магарач» в области микробиологии со дня его основания», в которой на примере старейшего научно-исследовательского винодельческого учреждения нашей страны показано развитие микробиологии виноделия за 50 лет.

Первый раздел сборника открывается другой работой Н. Ф. Саенко (Московский филиал Всес. научно-иссл. ин-та виноделия и виноградарства «Магарач») — «О направленной изменчивости, как методе получения спиртоустойчивых хересных дрожжей». Получение спиртоустойчивых хересных дрожжей имеет первостепенное практическое значение: если содержание спирта под хересной пленкой не превышает 15%, то вино нередко подвергается уксуснокислому брожению. Производственные же штаммы хересных дрожжей очень плохо развиваются в винах, имеющих концентрацию выше 15%. Таким образом, повышение спиртоустойчивости дрожжей даже на один-два градуса может вполне удовлетворить технологические требования, предъявляемые к производственной хересной пленке.

Применив метод направленного воспитания лучших музейных и производственных культур Херес-20 и Херес-20-С, с последующим отбором и закреплением свойств наиболее спиртоустойчивых штаммов, автор получил новые наследственно-стойкие формы, хорошо образующие пленку при 17 объемных процентах спирта и сохраняющие свои свойства после 50 пересевов в течение года. Новые свойства сохранялись также после многократных пересевов на виноградное сусло. Исходные музейные культуры формировали пленку только при 14,5% спирта. Адаптированные культуры обладали и другими ценными свойствами — усиленной альдегидо- и ацеталеобразующей способностью и более интенсивным развитием пленки. Изучив оптимальные условия для развития спиртоустойчивости, автор установил, что для закрепления адаптивных свойств спиртоустойчивых форм последние должны содержаться при 20—22° и при pH = 3,3—3,4 в средах с 16—17% спирта. Необходимо также добавление аммиачного и аминного азота (80—120 мг на 1 л). Соблюдение такого режима позволяет в полтора раза ускорить рост хересной пленки в вине. В статье подробно описаны методы получения спиртоустойчивых форм; наилучшими являются: 1) метод постепенного очень медленного повышения концентрации спирта в вине после развития на его поверхности хересной пленки, для чего применяется периодическое обновление среды при помощи сконструированной автором установки для сменной среды; 2) метод последовательных частых пересевов на вино с постепенно повышающимися концентрациями спирта.

Помимо своего практического значения, работа Н. Ф. Саенко, являясь конкретным развитием одной из ведущих проблем современной прогрессивной биологии — проблемы направленной изменчивости организмов, важна и в теоретическом отношении. Так же как и более старые работы А. А. Имшенецкого и Л. Г. Логиновой, опыты автора показывают, что путем умелого воспитания дрожжей можно сформировать у них новые наследственно-стойкие производственно ценные свойства. Ценным в работе является также то, что Н. Ф. Саенко сумела подобрать для вновь полученных форм оптимальные отвечающие требованиям их биологии условия развития, при которых не происходит вырождения. Этот раздел работы может дать известные опорные пункты в разработке рациональных методов содержания музейных культур дрожжей, обеспечивающих сохранение производственно полезных признаков.

В статье К. В. Косикова «Гибридизация и селекция дрожжей» (Институт генетики АН СССР) намечаются основные направления и методы получения и селекции продуктивных культур дрожжей.

Исходя из основ мичуринского учения и современных экспериментальных данных по изменчивости микроорганизмов, автор указывает, что все три основных мичуринских способа выведения новых качественно улучшенных пород могут с успехом применяться по отношению к микроорганизмам и, в частности, по отношению к дрожжевым грибкам. Наиболее распространенным способом в микробиологии является метод выделения культур из отдельных клеток при массовом посеве и последующий отбор наиболее ценных культур. Несмотря на сравнительно малую эффективность и большую трудоемкость этого способа, по отношению к микроорганизмам, характерной чертой которых является высокий темп размножения и возможность легкого получения массовых культур, он нередко дает положительные результаты. Все же бывают случаи, когда из нескольких десятков выделенных из производства культур не удается отобрать ни одной, которая превосходила бы по своим производственным показателям исходную музейную культуру. Поэтому разработка второго и особенно третьего мичуринского способов — гибридизации и направленной изменчивости путем воздействия измененными условиями жизни — является, по мнению автора, неотложной задачей в селекции дрожжей. Применяя гибридизацию, автор рекомендует в зависимости от поставленной задачи использовать либо гибриды первого поколения (обладающие повышенной жизненностью), либо отбирать из расщепляющегося второго поколения нужную форму и посредством культивирования на соответствующей среде закреплять у этой формы требуемые свойства. Автор указывает на ряд полученных им гибридов, успешно используемых в производстве (например, при выработке сладкого пива). Применяя третий мичуринский способ — направленную изменчивость,— следует идти двумя путями: 1) получать направленно измененные формы, возникающие в результате ассимиляции экстрактов и препаратов из родственных штаммов (таким способом автором были получены расы Sacch. globosus, сбраживающие сахарозу), или 2) путем приспособления к новым условиям и к использованию новых источников питания. В статье приводятся также опыты автора по гибридизации дрожжей, результаты которых опровергают ряд положений морганистов-менделистов. Предлагаемые К. В. Косиковым в применении к дрожжевым организмам мичуринские способы селекции открывают для микробиолога-селекционера широкое поле деятельности. Остается только пожалеть, что не всем описываемым в статье методам дано экспериментальное подтверждение на дрожжевых объектах. Так, например, для получения гибридов, обладающих большей жизненностью, автор, в соответствии с учением Т. Д. Лысенко, предлагает скрещивать между собой споры культур, выращиваемых в различных условиях, на различных питательных субстратах. Следовало бы подкрепить это теоретически безусловно перспективное предложение соответствующими экспериментами. Постановка таких опытов, сравнительно легко осуществимых на микробных объектах, представила бы значительный общебиологический интерес.

Разнообразие технологических процессов виноделия, связанное с производством вин различного типа (столовых, десертных, крепких) и различием в почвенно-клима-

тических условиях, ставит перед селекционером соответственно разнообразные задачи. При производстве сухих столовых вин наиболее важным свойством полноценных дрожжевых культур является их высокая кислотовыносливость.

Вопросу о селекции кислотовыносливых рас дрожжей посвящена интересная статья Е. Н. Одинцовой «Ведущий признак отбора дрожжей для виноделия и их распространение в природе» (Всес. научно-иссл. ин-т виноделия и виноградарства «Магарач» и Ин-т биохимии АН СССР). Обследовав кислотовыносливость более 300 различных музейных и производственных рас Sacch. ellipsoideus в процессе их размножения и брожения и сравнив их по этому признаку с другими видами дрожжей (Sacch. cerevisiae и Sacch. carlsbergensis), автор установил, что повышенная кислотовыносливость является видовым свойством Sacch. ellipsoideus, определяющим широкое распространение данного вида в природе и его ведущую роль в процессах брожения виноградного сока. Вид Sacch. ellipsoideus в целом приспособлен к нормальному развитию при pH = 3,5. Обследование показало, что из 300 изученных штаммов около 30% способно хорошо развиваться при более широком колебании нижних границ величин pH (между 3,5 и 2,9) и около 3% хорошо развивается при еще более низких pH (между 3,5 и 2,5). Из последней группы было отобрано 10 рас перспективных для производства сухих вин. Эти культуры активно размножаются в начале брожения, что повышает их стойкость в борьбе с посторонней микрофлорой, и обладают довольно крупными размерами клеток — признаком, обеспечивающим лучшую и более быструю оседаемость по окончании брожения. В течение всего периода брожения плазма клеток находилась в хорошем состоянии; это свойство, связанное с высокой осмофилией, дает возможность получать сухое вино, не содержащее излишнего количества аминокислот — продуктов распада плазмы клеток. В процессе работы было выяснено, что ростовая реакция организма (энергия размножения) на кислотоустойчивость, легко и быстро определяемая электрофотонефелометром отечественной конструкции (системы Шипалова), более чувствительна, чем бродильная реакция, изучение которой связано с относительно трудоемким способом исследования. Исходя из этих данных, Е. Н. Одинцова предлагает быстрый метод отбора кислотовыносливых форм дрожжей. По мнению автора, признак кислотовыносливости является ведущим при первичном отборе производственных культур дрожжей для нагорных и более северных районов виноделия.

Е. И. Квасников (Среднеазиатский филиал Всес. научно-иссл. ин-та виноделия и виноградарства «Магарач») в статье «Основные особенности микробиологических процессов виноделия Средней Азии и пути управления ими» выдвигает на обсуждение еще сравнительно слабо разработанный вопрос о закономерностях взаимоотношений различных групп микроорганизмов, развивающихся при производстве вина, и об определяемых этими закономерностями селекционных принципах. В условиях Средней Азии наибольшее число заболеваний сухих, крепких и десертных вин вызывается молочнокислыми бактериями. Исследования автора, проведенные на более чем 1000 штаммах молочнокислых бактерий, показали, что подавляющее число штаммов, выделенных из вин, развивается при очень высоких концентрациях спирта (16—23%). Приспособленность молочнокислых бактерий вина к развитию при высоких концентрациях спирта является, по мнению автора, их характерным свойством, выработавшимся в процессе эволюции, в условиях обитания в сообществе с дрожжами. Значительная часть молочнокислых бактерий остро нуждается в комплексе аминокислот и витаминов, выделяющихся при автолизе дрожжевых клеток. Таким образом, высокое содержание дрожжевого автолизата в среде способствует развитию молочнокислых бактерий и создает предпосылку для молочнокислых заболеваний вин. В отличие от существовавших до сих пор взглядов, автор на основании своих исследований приходит к выводу, что фактором, ограничивающим развитие бактерий в вине, является не спирт, а вся совокупность условий обитания. Отсюда возникает вопрос о принципах селекции дрожжей для Средней Азии: чтобы предохранить вина от развития молочнокислых бактерий, следует селекционировать расы, обладающие способностью при глубоком выбраживании сусла давать полное осветление и плотный, невзмучивающийся осадок. Е. И. Квасников считает, что, используя эти свойства дрожжей, можно более полно и в более короткий срок освобождать от них вино, защитив таким способом его от продуктов автолиза, содействующих развитию бактериальных заболеваний. Селекционированные автором расы дрожжей, удовлетворяющие этим требованиям, дали хорошие результаты для белых, красных и шампанских вин.

Опубликованные в этом разделе сборника статьи дают достаточно полное представление о значительных теоретических и практических достижениях в области применения мичуринских методов селекции дрожжей и показывают, что для успеха селекции необходимо глубокое изучение биологии микроорганизма, требований, предъявляемых им к условиям жизни, и его взаимосвязей с остальным микробным населением данной среды. Материалы этого раздела, несомненно, окажутся полезными и при разработке конкретных методов селекции других микроорганизмов.

Значительный интерес представляют статьи, помещенные во втором разделе сборника (функциональная морфология дрожжевых организмов и современные методы их исследования). Ранее опубликованные работы М. Н. Мейселя и его сотрудников показали, что в зависимости от того или иного функционального состояния дрожжевой клетки изменяется морфология всех клеточных компонентов. Метод морфологического изучения функционального состояния дрожжей весьма перспективен не только в научно-

исследовательской, но и в практической работе производственных лабораторий. Сравнительно простые и нетрудоемкие микроскопические методы исследования могут значительно ускорить и уточнить технику контроля состояния производственных культур. Современная микроскопическая техника обогатилась рядом новых методов, значительно расширивших наши возможности исследования живых клеток. К сожалению, в литературе почти отсутствует доступное для производственных лабораторий и начинающих научных работников описание этих методов в применении к дрожжевым организмам. Статья М. Н. Мейселя «Оптические методы исследования строения и функционального состояния дрожжевых организмов» (Ин-т микробиологии АН СССР) восполняет этот пробел и представляет большой интерес для микробиологов всех профилей. В начале своего сообщения автор достаточно подробно описывает методы исследования дрожжевых организмов при помощи темнопольной, фазоконтрастной и люминесцентной микроскопии. Особенно ценно описание последнего метода, еще сравнительно слабо распространенного в микробиологических лабораториях. Предлагаемая автором методика позволяет использовать люминесцентную микроскопию в синих лучах при помощи простейшей установки, состоящей из обычного биологического микроскопа и синего и желтого светофильтров. При этом методе дрожжевые клетки флюорохромируются (обрабатываются люминесцирующим веществом) прижизненно, полностью сохраняют жизнеспособность и даже размножаются.

Применение фазового контраста и люминесцентной микроскопии позволяет исследовать строение ядра и кариосомы в живых дрожжевых клетках. При помощи новых оптических методов может быть тщательно изучен вакуолярный аппарат клетки и его выделительная и окислительно-восстановительная функция. Полученные М. Н. Мейселем данные полностью опровергают нелепые измышления американского микробиолога Линденгрена, пытавшегося отождествить дрожжевую вакуоль с клеточным ядром. Фазовый контраст и люминесцентная микроскопия позволяют прижизненно выявить и исследовать структуру и функциональное значение клеточных органоидов хондриосом. Путем блокады хондриосом избытком адсорбировавшегося на их поверхности флуорохрома автором и его сотрудниками было установлено, что эти органоиды принимают участие в окислительно-восстановительных и синтетических процессах. Особенно много нового могут дать оптические методы исследования при изучении перестроек клеточного протопласта в различных условиях существования и стадиях жизнедеятельности дрожжевых клеток, что особенно важно для микробиолога производственных лабораторий. По строению клеточного протопласта удается установить переход дрожжевых клеток от покоящегося состояния к активному росту и размножению, определить тип дыхания, проследить за поступлением и превращением в клетке веществ, вовлекаемых в процессы обмена (витаминов, предшественников аминокислот), выявить ненормальные патологические состояния — угнетение жизнедеятельности, авитаминоз и, нередко, даже установить характер вызвавшего это состояние воздействия. Наконец, при помощи прижизненного флуорохромирования становится, повидимому, возможным различать живые, ослабленные и мертвые клетки, что имеет первостепенное практическое значение. Автор считает наиболее перспективным для этих целей обрабатывать микроорганизмы кислыми (анодными) флуорохромами — например, примулином, вызывающим в живых клетках свечение только оболочки, а в мертвых — яркое, светложелтое свечение всего протопласта. Особенно эффективна, по данным М. Н. Мейселя, комбинация примулина с небольшим количеством акридина оранжевого — после такой обработки наблюдаются четкие различия в свечении живых, ослабленных и мертвых дрожжевых клеток.

В статье А. М. Диланян и С. Х. Тер-Маркосян (Ин-т виноделия и виноградарства пищевой промышленности Арм. ССР) представлены материалы по еще одному мало применяемому в микробиологии методу исследования — спектральному анализу дрожжевых организмов. Авторы поставили себе целью выяснить изменения состава химических элементов в различных дрожжевых культурах Sacch. ellipsoideus после выбраживания сахара виноградного сока и в начальной стадии формирования вина при беспленочном хересовании. Применив спектрограф отечественного производства, авторы следили за динамикой накопления различных микроэлементов в дрожжевой клетке. Поскольку этим методом удается установить наличие микроэлементов в тысячных долях процента в очень малом количестве дрожжевой массы, то он может быть весьма полезен при изучении их роли в обмене веществ микробной клетки. Следует, правда, отметить, что полученные авторами данные не дают четкого представления об изменении содержания микроэлементов в дрожжевой клетке в процессе развития культуры в вине.

В последние годы микроорганизмы привлекают к себе большое внимание в качестве наиболее удобных, точнейших биологических индикаторов на наличие в среде тех или иных соединений. Для пищевой промышленности особенно важное значение имеет определение содержания витаминов в продукте. Применение дрожжей и родственных им организмов в качестве индикаторов на количественное и качественное содержание витаминов в виноградном соке, вине, виноматериалах и отходах виноделия может оказаться благодарной задачей для микробиолога и биохимика, позволит легко характеризовать витаминную ценность продукта и, подбирая соответствующие расы дрожжей, получать богатые витаминами вина. В этих целях прежде всего необходимо провести широкое обследование различных групп дрожжей на их способность к син-

тезу витаминов, в результате чего можно будет отобрать наиболее перспективные индикаторные и производственные штаммы. Проблеме синтеза витаминов дрожжевыми микроорганизмами посвящена публикуемая в сборнике работа Е. Н. Одинцовой (Всес. научно-иссл. ин-т виноделия и виноградарства «Магарач» и Ин-т биохимии АН СССР). Автор обследовал около 300 культур дрожжей и дрожжеподобных микроорганизмов, принадлежащих к разным видам и родам. В работе определялась потребность этих культур в 6 витаминах комплекса В (инозите, пантотеновой кислоте, биотине, витамине B_1, B_6 и никотиновой кислоте). Опыты показали, что различные виды дрожжей значительно отличаются между собой по своей способности к синтезу витаминов. Эти различия прежде всего связаны с бродильными свойствами микроорганизмов. Проведенное обследование дало возможность наметить пути для быстрого отбора перспективных индикаторных форм на витамины. Для определения инозита автор рекомендует любых представителей рода Schizosaccharomyces, для определения биотина — Sacch. ellipsoideus, Sacch. paradoxus, многих представителей Debaryomyces. Sacch. cerevisiae и Sacch. paradoxus представляют собой хорошие индикаторные культуры на пантотеновую кислоту. Определение витамина B_1 может быть произведено при помощи Endomyces magnusii, витамина B_6 при помощи Sacch. uvarum и Sacch. carlsbergensis. Автор указывает, что исследование биосинтетических способностей дрожжевых организмов было им использовано для разработки новых более совершенных микробиологических методов определения витаминов комплекса В. К сожалению, эти методы не описываются в работе. Следует отметить, что, в отличие от большинства других работ, опубликованных в сборнике, настоящая статья написана чрезмерно сжато и скорее представляет собой резюме большой работы.

Изучение микрофлоры почв виноградников имеет большое значение для повышения урожайности. Специфичность культуры винограда, во многом отличающаяся от остальных сельскохозяйственных культур, определяет особые условия развития микробных ценозов. Между тем научно-исследовательская работа в области изучения почвенной микробиологии виноградников еще недостаточно развернута. Целый ряд вопросов почвенной микробиологии в применении к виноградарству — влияние почвенной микрофлоры на рост и плодоношение виноградной лозы, роль микробов в азотном балансе почв виноградников, роль микробов-антагонистов в заболевании виноградной лозы и т. д.— еще ждут своего скорейшего разрешения.

Напечатанные в третьем разделе сборника статьи Н. А. Красильникова и Е. Н. Мишустина (Ин-т микробиологии АН СССР) касаются двух важнейших вопросов почвенной микробиологии — роли микроорганизмов в развитии растений и повышении урожайности и их участия в оструктуривании почв. Обе статьи имеют общий, обзорный характер. Хотя в них и не представлен специальный материал, они могут оказать большую пользу микробиологу-практику, так как вводят его в тот круг вопросов почвенной микробиологии, которые имеют непосредственное значение для виноградарства. В статье Н. А. Красильникова в понятной для неспециалиста форме обсуждается роль микроорганизмов в плодородии почв, селекционирующая роль растений, азотный баланс почв, значение микробов-ингибиторов и микробов-активаторов. Заслуживают серьезного внимания новые, намечаемые автором пути использования микробов-антагонистов и антибиотических веществ для предупреждения заболеваний и лечения уже пораженных растений. Статья Е. Н. Мишустина «Микробиологический фактор и оструктуривание почвы» дает сводку современного состояния еще не вполне разработанного вопроса о значении микробного фактора в формировании перегноя в почве. Раздел заканчивается работой М. А. Кублицкой (Среднеазиатский филиал Всес. научно-иссл. ин-та виноделия и виноградарства «Магарач») «Фузариоз виноградной лозы», в которой автор на основании исследования большого материала и лабораторных опытов приходит к выводу, что весьма распространенный в Узбекистане и некоторых других районах виноделия хлороз виноградной лозы вызывается грибами, принадлежащими к роду Fusarium.

В сборнике напечатана также резолюция конференции, в которой подробно отражены вопросы, подлежащие научно-исследовательской разработке в области микробиологии виноделия и виноградарства.

Таково краткое содержание сборника. Хотя в нем и не уделено внимания некоторым важным вопросам — методам хранения музейных культур, многим микробным заболеваниям вина, микробиологическому контролю производства,— все же в целом публикуемые материалы дают достаточно полное представление о современных достижениях и дальнейших задачах микробиологии виноделия. Подробные списки литературы, приложенные почти к каждой статье, увеличивают ценность сборника как справочного пособия. Он окажет большую помощь молодым работникам, специализирующимся в этой области, а многие статьи будут с интересом прочитаны микробиологами и биологами других профилей. Сборник хорошо оформлен и богато иллюстрирован.

А. С. Кривиский

БИБЛИОГРАФИЯ ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

(1951—1952 гг.)

б) БИОХИМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

(Продолжение см. т. XXII, № 4)

Najjar V. A. and Fischer V. Glutamic acid decarboxylase from E. coli. Federat Proc. 1952, vol. II, No. I, part. I, p. 264.

Narrod S. A. and Wood W. A. Evidence for a glutamic acid racemase in Lactobacillus arabinosus. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 35, No. 2, p. 462—463.

Nicolle J., Joyeux Y. et Baltazzi E. Les antipodes optiques du mannose et du sorbose comme source de carbone pour diverses bactéries. C. R. Acad. Sci., Paris, 1951, t. 233, No. 25, p. 1696—1698.

Nikodémusz I., Javor T. und Fülöp T. Sind die Altohole in dem Bakterienstoffwechsel als Kohlenstoffquelle anwendbar? Ztbl. Bakter., Ab. I. Orig., 1951, Bd. 157, No. 6, S. 452—457.

Nisman B. and Mager J. Coenzyme A as a co-factor of the pyruvate dehydrogenase system of Cl. saccharobutyricum. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4304, p. 709—711.

Nisman B. and Mager J. Diphosphopyridine nucleotide and phosphate requirement for oxidation of amino-acids by cell-free extracts of obligate anaerobes. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4293, p. 243—244.

Northcote D. H. and Horne R. W. The chemical composition and structure of the yeast cell wall. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 2, p. 232—236.

Nossal P. M. The effects of glucose and potassium on the metabolism of pyruvate in Lactobacillus arabinosus. Biochem. J., 1952, vol. 50, No. 5, p. 591—595.

Nossal P. M. Estimation of L-malate and fumarate by malic decarboxylase of Lactobacillus arabinosus. Biochem. J., 1952, vol. 50, No. 3, p. 349—355.

Oginsky E. L. Uptake of vitamin B_{12} by Escherichia coli. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 36, No. 1, p. 71—79.

Okazaki H. Amylases of various species of molds. II. Tripartite analysis of starch hydrolyzates by five types of molds. J. Agric. Chem. Soc. Japan, 1951, vol. 24, No. 5 p. 201—215.

Opienska-Blauth J., Madecka-Borkowska I. and Borkowski T. Comparative studies on the metabolism of lactose, glucose and galactose in liquid cultures of E. coli. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4306, p. 798—799.

Ottesen M. and Villee C. The peptides released in the enzymatic transformation of ovalbumin to plakalbumin. C. R. Lab. Carlsberg, Ser. Chim., 1951 ,vol. 27, No. 18, p. 421—435.

Panijel J. et Huppert J. La croissance de E. coli B avec les acides aminés comme seule source d'azote. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 234, No. 11, p. 1226—1228.

Panijel J. et Huppert J. La croissance de E. coli B avec les acides aminés comme seule source d'azote, C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 234, No. 15, p. 1587.

Pavgi M. S., Pithavala H. R., Savur G. R. and Sreenivasan A. Polygalacturonase activity of Aspergilli. Proc. Ind. Acad. Sci., B., 1951, vol. 34, No. 1, p. 33—42.

Pazur J. H. Transfructosidase, a fructosyltransferring enzyme of Aspergillus oryzae. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part. 1, p. 267—268.

Pazur J. H. and French D. The action of transglucosidase of Aspergillus oryzae on maltose. J. Biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 1, p. 265—272.

Pennington D., Sawyer Ch. H. and Schmidt J. The nature of the growth response of Saccharomyces cerevisiae to inositol. J. Bact. 1951 vol. 62, No. 6, p. 677—683.

Perlman D. and Wagman G. H. Studies on the utilization of lipide by Streptomyces griseus. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 2, p. 253—262.

Pierce W. A. and White A. G. C. The role of certain sugars in the production of capsular polysaccharide and lactic acid by Streptococcus pyogenes. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 3, p. 301—307.

Ping S. Further studies on the nitrogen source for the production of amylolytic enzymes by submerged culture of Aspergillus niger. Canad. J. Bot., 1952, vol. 30, p. 331—337.

Pollock M. R. and Perret C. J. The relation between fixation of penicillin sulphur and penicillinase adaptation in B. cereus. Brit. J. exp. Pathol., 1951, vol. 32. No. 5, p. 387—396.

Postgate J. R. On the nutrition of Desulphovibrio desulphuricans. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 4, p. 714—724.
Postgate J. R. The reduction of sulphur compounds by Desulphovibrio desulphuricans. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 4, p. 725—738.
Postgate J. R. Competitive and non-competitive inhibitors of bacterial sulphate reduction. J. Gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 1/2, p. 128—142.
Pridham T. G. Microbial synthesis of riboflavin. Econom. Bot., 1952, vol. 6, No. 2, p. 185—205.
Principe P. A. and Thornberry H. H. Effect of cobalt on production of streptomycin and vitamin B_{12} by Streptomyces griseus. Phytopath., 1952, vol. 42, No. 3, p. 123—126.
Proctor B. E., Coleman M. T. and Goldblith S. A. Effect of high energy cathode rays on the catalase activity of Micrococcus pyogenes var. aureus. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 3, p. 337—339.
Proom H. and Woiwod A. J. The distribution of glutamic acid decarboxylase in the family Enterobacteriaceae, examined by a simple chromatographic method. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 4, p. 681—686.
Proom H. and Woiwod A. J. Amine production in the genus Proteus. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 5, p. 930—938.

Rabinowitz J. C. and Snell E. E. The nature of the requirement of Saccharomyces carlsbergensis for vitamin B_6. Arch. Biochem. Biophys., 1951, vol. 33, No. 3, p. 472—481.
Radin N. S. α-lipoic acid in oxidative reactions of a Corynebacterium. Proc. Soc. Exp. Bol. a. Med., 1952, vol. 79, No. 4, p. 723—726.
Rahn O. and Iske B. The fate of riboflavin in the ageing of bacteria Growth, 1951, vol. 15, No. 3, p. 147—153.
Raistrick H. and Ross D. J. Studies in the biochemistry of microorganisms. 87. Dihydrogladiolic acid, a metabolic product of Penicillium gladioli Machacek. Biochem. J., 1952, vol. 50, No. 5, p. 635—647.
Ramachandran K. and Walker T. K. The formation of pyruvic and dimethylpyruvic acids by Aspergillus niger. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 35, No. 1, p. 195—203.
Ramachandra P. T. N. and Krishnamachar V. S. Studies in the fermentation of carbohydrates by yeasts. III. J. Sci. Indust. Res. (India), 1950, vol. 9, No. 11, p. 278—280.

Ramakrishnan C. V. and Banerjee B. Mould lipase: effect of addition of vitamins and sterol to the cake medium on the growth and the activity of the lipolytic mould. Nature, Lond., 1951, vol. 168, No. 4282, p. 917—918.
Ramakrishnan C. V. and Banerjee B. N. Studies on mold lipase. Comparative study of lipases obtained from molds grown on cocoanut. Exper., 1951, vol. 7, fasc. 11, p. 434—435.
Ramakrishnan C. V. and Banerjee B. N. Comparative study of lipases obtained from moulds grown on oil seeds. Enzymologia, 1951, vol. 15, No. 1, p. 33—39.
Ramakrishnan C. V. and Banerjee B. N. Comparative study of lipases obtained from moulds grown on groundnut. Biochem. Biophys. Acta, 1952, vol. 8, No. 2, p. 216—218.
Rautanen N. and Kärkkäinen V. On the phosphatase activity of low-phosphorus Torulopsis utilis. Acta Chem. Scand., 1951, vol 5, No. 7—8, p. 1216—1217.
Rhuland L. E. and Bard R. C. The role of anthranilic acid in the nutrition of Lactobacillus arabinosus. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 1, p. 133—143.
Rieder H. P. Über die Zuckeraufnahme von Hefezellen. Ber. Schweiz. Botan. Gesellsch., 1951, Bd. 61, S. 539—621.

Roberts R. B. and Bolton E. T. The role of glutathione in protein synthesis by Escherichia coli. Science, 1952, vol. 115, No. 2992, p. 479.
Robinson J. The effects of salts on the nitritase and lactic acid dehydrogenase activity of Micrococcus halodenitrificans. Canad. J. Bot., 1952, vol. 30, No. 2, p. 155—163.
Robinson J. and Gibbons N. E. The effects of salts on the growth of Micrococcus halodenitrificans n. sp. Canad. J. Bot., 1952, vol. 30, No. 2, p. 147—154.
Roelofsen P. A. and Hoette I. Chitin in the cell wall of yeasts. Antonie van Leeuwenhoek, 1951, vol. 17, No. 5, p. 297—314.
Rothstein A. and Berke H. Effects of dinitrophenol (DNP) on endogenous respiration and fermentation of yeast. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, p. 1, 133.
Rudolph W. Wuchsstoffe und Antiwuchsstoffe. Ein Beitrag zum Stoffwechsel der Mikroorganismen. Bern, H. Huber, 1948. 108 S. (Beiheft zur Internationalen Zeitschrift für Vitaminforschung No. 5.)
Ryman B. E. and Walsh E. O'F. Some effects of cocaine on the metabolism of Saccharomyces cerevisiae. Biochem. J., 1952, vol. 50, No. 4, p. 570—573.

Sable H. Z. and Guarino A. J. Phosphorylation of gluconate in yeast extracts. J. Biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 1, p. 395—402.
Sakaguchi K., Okazaki H. and Iwasaki T. Protein synthesis by molds. I. J. Agric. Chem. Soc. Japan, 1950, vol. 24, No. 2, p. 77—79.
Sallman B. The process of hyaluronidase formation by hemolytic streptococci. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 6, p. 741—746.

Salton M. R. J. Studies of the bacterial cell wall. III. Preliminary investigation of the chemical constitution of the cell wall of Streptococcus faecalis. Biochem. Biophys Acta, 1952, vol. 8, No. 5, p. 510—519.
Salvesen A. An attempt to demonstrate rennin enzyme in Clostridium welchii. Acta pathol. Microbiol. Scand, 1952, vol. 31, fasc. 1, p. 137—144.
Salvin S. B. and Hoyer B. H. Growth of Actinomyces bovis: quantitative cultural methods. Proc. Soc. Exper. Biol. a Med., 1951, vol. 78, No. 1, p. 128—130.
Sarett H. P. The synthesis of folic acid-like compounds by Lactobacillus arabinosus. Arch. Biochem. Biophys., 1951, vol. 34, No. 2, p. 378—390.
Sartory A. et R., Quevauviller A. et Geissmann J. A doses hormonales les hétéroauxines n'agissent pas sur certains microbes et champignons inférieurs. Bull. Soc. Chim. Biol., Paris, 1951, vol. 33, No. 10, p. 1600—1603.
Scardovi V. Studi sulla resistenza dei lieviti all'anidride solforosa. I. Prime indagini sul meccanismo della resistenza all'anidride solforosa. Ann. Microbiol., 1951, vol. 4, No. 516, p. 131—172.

Schachinger L. und Heiss R. Osmotischer Wert und Mikroorganismenwachstum in Zuckerlösungen. Arch. Mikrobiol., 1951, Bd. 16, H. 4, S. 347—357.
Schachman H. K. Ultracentrifuge, electrophoresis, and viscosity studies on crystalline pyrophosphatase. J. Gen. Physiol., 1952, vol. 35, No. 3, p. 451—454.
Schaeffer P. et Nisman B. Recherches sur le métabolisme des cytochromes et des porphyrines. Cas des bactéries anaerobies strictes. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 82, No. 1, p. 109—110.

Schaeffer P. et Slonimski P. P. Relation entre cytochromes et streptomycine chez un mutant de Bacillus cereus exigeant la streptomycine pour la croissance. C. R. Acad. Sci., Paris, 1951, t. 233, No. 25, p. 1692—1694.
Schatz A. and Bovell C. Growth and hydrogenase activity of a new bacterium, Hydrogenomonas facilis. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 1, p. 87—98.
Schüssel H., Maurer W., Hock A. und Hummel O. Biosynthese von S^{35}-markiertem Methionin. Biochem. Z., 1951, Bd. 322, H. 3, S. 226—229.
Schmidt G., Seraydarian M., Seraydarian K. and Thannhauser S. J. Observations supporting a debranching action of ribonuclease on yeast ribonucleic acid. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part 1, p. 283.
Schmid W. Zellvermehrung und Zellatmung bei Hefe. Z. Naturforsh., 1952, Bd. 7b, H. 4, S. 217—219.

Schopfer W. H. et Grob E. C. Sur la biosynthèse du β-carotène par Phycomyces cultivé sur un milieu contenante de l'acétate de sodium comme unique source de carbone. Exper., 1952, vol. 8, No. 4, p. 140.
Schramm G., Albrecht W. und Munk K. Über die enzymatische Spaltung der Desoxyribosenucleinsäure aus Thymus und der Ribosenucleinsäur aus Hefe. Z. Naturforsch., 1952, Bd. 7b, H. 1, S. 10—18.
Schubert E. Differentiation of the polygalacturonases of Aspergillus niger. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4309, p. 931—932.
Schulze K. L. Beiträge zur Physiologie und Technologie der Fettbildung bei Mikroorganismen. Arch. Mikrobiol., 1951, Bd. 15, H. 2, S. 315—351.
Schwimmer S. Enzymic and chemical homogeneity of Schardinger dextrinogenase. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part 1, p. 283.

Schwimmer S. and Garibaldi J. A. Further studies on the production, purification and properties of the Schardinger dextrinogenase of Bacillus macerans. Cereal Chem., 1952, vol. 29, No. 2, p. 108—122.
Seegmiller J. E. A. triphosphorydine nucleotide specific aldehyde dehydrogenase from yeast. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part 1, p. 284.
Seeley H. W. and Rio-Estrada C. The role of riboflavin in the formation and disposal of hydrogen peroxide by Streptococcus faecalis. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 5, p. 649—656.

Servant J. Comparaison des quantités de polyosides extraites de souches sensibles et résistantes a la dihydrostreptomycine chez certaines bactéries à gram négatif. Ann. Inst. Past. Pasteur, 1951, t. 81, No. 5, p. 523—527.
Shirk H. G., Corey R. R. and Poelma P. L. The influence of chemical structure on fungal activity. II. Effect of p-chlorination of phenols. Arch. Biochem. Biophys., 1951, vol. 32, No. 2, p. 392—396.
Shirk H. G., Poelma P. L. and Corey R. R. The influence of chemical structure on fungal activity. I. Effect of p-chlorophenol and derivatives. Arch. Biochem. Biophys., 1951, vol. 32, No. 2, p. 386—391.

Shorb M. S. Growth-promoting activity of L-lyxoflavin for Lactobacilus lactis. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1952, vol. 79, No. 4, p. 611—614.
Siegel J. M. Photosynthetic conversion of acetone to acetate by Rhodopseudomonas gelatinosa. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part 1, p. 287.
Siminovitch L. Relation entre le développement abortif du prophage chez Bacillus megatherium 91 (I) et la synthèse de l'acide désoxyribonucléique. C. R. Acad. Sci., Paris, 1951, t. 233, No. 25, p. 1694—1696.

Simonart P. et Kwang Yü Chom. Séparation chromotographique de l'amylase et de la protéinase d'Aspergillus tamarii. Enzymologia, 1951, vol. 14, fasc. 6, p. 356—361.

Slade H. D., Knox G. A. and Slamp W. C. The amino acid nutrition of group a hemolytic streptococci, with reference to the effect of glutathione on the cystine requirement. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 5, p. 669—675.

Sleeper B. P. The bacterial oxidation of aromatic compouds. V. Metabolism of benzoic acids labelled with C^{14}. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 5, p. 657—662.

Sloane N. H., Crane C. and Mayer R. Studies on the metabolism of p-aminobenzoic acid by Mycobacterium smegmatis. J. Biol. Chem., 1951, vol. 193, No. 2, p. 453—458.

Sloane N. H. and McKee R. W. An assay procedure for the determination of a growth stimulatory factor for Staphylococcus albus. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 4, p. 983—986.

Sloane N. H. and McKee R. W. Biochemical and isolation studies on a growth stimulatory factor (SSF) for Staphylococcus albus present in bovine plasma. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 4, p. 987—990.

Sloane N. H., Samuels M., Ritter C., Crane C. and Mayer R. L. Factors affecting the oxidation of aniline by Mycobacterium smegmatis. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part I, p. 288.

Smiley K. L., Sobolov M., Austin F. L., Rasmussen R. A., Smith M. Biosynthesis of riboflavin, L. bulgaricus factor and other growth factors. Indust. Engineer. Chem., 1951, vol. 43, No. 6, p. 1380—1383.

Smith L. Bacterial cytochromes. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part 1, p. 289.

Smith P. B. and Pollard A. L. Chromatographic methods in the study of a polysaccharide. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 1, p. 129—132.

Smith R. H. A study of the role of inositol in the nutrition of Nematospora gossypii and Saccharomyces carlsbergensis. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5. No. 4, p. 772—780.

Smithies W. R. Chemical composition of a sample of mycelium of Penicillium griseofulvum Dierckx. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 2, p. 259—264.

Sørensen H. On the specificity and products of action of xylanase from Chaetomium globosum Kunze. Physiol. Plant., 1952, vol. 5, fasc. 2, p. 183—198.

Soru E., Costescu G. şi Vainer H. Hialuronidaza streptococică. II. Studiul aminoacizilor prin metoda cromatografiei de partitie de hartie de filtru. (Резюме на рус. и франц. яз.) Comun. Acad. Republ. Popul. Române, 1951, t. 1, No. 3, p. 257—260.

Spencer R. E. J. and Powell J. F. Flavin-adenine dinucleotide and diaphorase in resting and germinated spores, and vegetative cells of Bacillus subtilis and Bacillus megatherium. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 2, p. 239—245.

Spicer D. S., Liebert K. V., Wright L. D. and Huff J. W. Study of ureidosuccinic acid and related compounds in pyrimidine synthesis by Lactobacillus bulgaricus 09. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1952, vol. 79, No. 4, p. 587—588.

Stadtman E. R., Katz J. and Barker H. A. Cyanide-induced acetylation of amino acids by enzymes of Clostridium kluyveri. J. Biol. Chem., 1952, vol. 195, No. 2, p. 779—785.

Stanier R. Y., Hayaishi O. and Tsuchida M. The bacterial oxidation of tryptophan. I. A general survey of the pathways. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 4, p. 355—366.

Stanier R. Y. and Hayaishi O. The bacterial oxidation of tryptophan. II. Defective metabolism of anthranilic acid. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 4, p. 367—375.

Stewart R. C. and Sevag M. G. 4-amino-5-imidazolecarboxamide. Absence of correlation between its accumulation and the inhibition of bacterial growth by sulfonamides. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part 1, p. 293.

Steyn-Parvé E. P. Partial purification and properties of thiaminokinase from yeast. Biochim. Biophys. Acta, 1952, vol. 8, No. 3, p. 310—324.

Stokes J. L. Inhibition of microbial oxidation, assimilation and adaptive enzyme formation by methylene blue. Antonie von Leeuwenhoek, 1952, vol. 18, No. 1, p. 63—81.

Stone R. W. and Wilson P. W. The incorporation of acetate in acids of the citric acid cycle by Azotobacter extracts. J. Biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 1, p. 221—225.

Stone R. W. and Wilson P. W. Respiratory activity of cell-free extracts from Azotobacter. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 5, p. 605—617.

Strassman M. and Weinhouse S. The biosynthesis of arginine by Torulopsis utilis. J. Amer. Chim. Soc., 1952, vol. 74, No. 7, p. 1726—1730.

Swim H. E. and Krampitz L. O. Acetate oxidation by Escherichia coli. Federat. Proc., 1952, vol. 11. No. 1, part 1, p. 296.

Szulmajster J. Les mécanismes de la phosphorylation et de l'assimilation de l'anhydride carbonique chez les bactéries. Bull. Soc. Chim. Biol., Paris, 1951, t. 33, No. 10, p. 1323—1340.

Szulmajster J., Grunberg-Manago M. et Delavier C. Utilization du citrate par Escherichia coli. Exper., 1952, vol. 8, No. 1, p. 26—28.

Tabone M. J. et Robert M. D. Biosynthèse de l'ester β-glucosidique de l'acide anthranilique par Bacillus megatherium. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 234, No. 19, p. 1916—1918.

Tabor H. and Hayaishi O. The enzymatic conversion of histidine to glutamic acid. J. Biol. Chem., 1952, vol. 194, No. 1, p. 171—175.
Täufel K. und Krusen F. Der Abbau der Citronensäure durch Milchsäurebakterien. Biochem. Z., 1952, Bd. 322, H. 5, S. 371—374.
Taylor W. E. and McKibbin J. M. Effect of choline on yeast bioassay of inositol. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1952, vol. 79, No. 11, p. 95—96.
Thode H. G., Kleerekoper H. and McElcheran D. Isotope fractionation in the bacterial reduction of sulphate. Research, 1951, vol. 4, No. 12, p. 581—582.
Thomas R. La composition de l'acide ribonucléique de levure et le problème de la spécifité des acides nucléiques. Biochim. Biophys. Acta, 1952, vol. 8, No. 1, p. 71—75.
Thorne C. B., Gomez C. G. and Housewright R. D. Synthesis of glutamic acid and glutamyl polypeptide by Bacillus anthracis. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 3, p. 363—368.
Tissières A. A study of the cytochrome system and some other aspects of the respiration of Aerobacter aerogenes. Biochem. J., 1951, vol. 50, No. 2, p. 279—288.
Tissières A. Oxidation of glucose by a cell-free preparation of Aerobacter aerogenes. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4308, p. 880—881.
Totter J. R. Influence of folic acid, thymine and dehydroisoandrosterone acetate on formate C^{14} uptake by Streptococcus faecalis. Federat. Proc., 9152, vol. 11, No. 1, part 1, p. 300.
Trevelyan W. E. and Harrison J. S. Studies on yeast metabolism. I. Fractionation and microdetermination of cell carbohydrates. Biochem. J., 1952, vol. 50, No. 3, p. 298—303.
Trevelyan W. E., Gammon J. N., Wiggins E. H. and Harrison J. S. Studies on yeast metabolism. 2. Synthesis of cell carbohydrates during glucose fermentation, and its inhibition by azide. Biochem. J., 1952, vol. 50, No. 3, p. 303—310.
Turian G. and Haxo F. Further use of diphenylamine for the study of carotenoid biosynthesis in Mycobacterium phlei. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 5, p. 690—692.
Umbarger H. E. and Magasanic B. Competitive interactions between isoleucine and valine transamination in Escherichia coli. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part 1, p. 301.
Usdin V. R. and Burrell R. C. Preliminary study of the lipides of Rhodotorula gracilis. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 36, No. 1, p. 172—177.
Veldkamp H. Aerobic decomposition of chitin by micro-organisms. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4299, p. 500.
Vitucci J. C., Bohonos N., Wieland O. P., Lefemine D. V. and Hutching B. L. Studies on Lactobacillus factors. Arch. Biochem. Biophys., 1951, vol. 34, No. 2, p. 409—416.
Wagner W. H. Über den oxydativen Abbau aromatischer Substanzen durch saprophytäre Mycobakterien. Biochem. Z., 1951, Bd. 322, H. 2, S. 121—130.
Walker T. K., Hall A. N., Hopton J. W. Chromatographic detection of pyruvic, dimethyl pyruvic and α-ketoglutaric acids in cultures of Aspergillus niger on various substrates. Nature, Lond., 1951, vol. 168, No. 4285, p. 1042—1043.
Wall J. S., Wagenknecht A. C., Newton J. W. and Burris R. H. Comparison of the metabolism of ammonia and molecular nitrogen in photosynthesizing bacteria. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 5, p. 563—573.
Wang Ch. H., Thomas R. C., Labbe R. F., Cristensen B. E. and Cheldelin V. H. Pyruvate and acetate metabolism in baker's yeast. Federat. Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part 1, p. 305.
Ware G. C. Nutritional requirements of Bacterium coli at 44°. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 5, p. 880—884.
Warren G. H. The preparation and properties of a polysaccharide synthesized by Achromobacter fischeri. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 6, p. 779—785.
Watanabe A. Production in cultural solution of some amino acids by the atmospheric nitrgone-fixing blue-green algae. Arch. Biochem. Biophys., 1951, vol. 34, No. 1 p. 50—55.
Webley D. M. and Kock P. C. de. The metabolism of some aliphatic hydrocarbons alcohols and fatty acids by Proactinomyces opacus Jensen (Nocardia opaca Waksman & Hendrik). Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 3, p. 371—374.
Weil A. J. Inhibition of pigment formation of Serratia marcescens by chloramphenicol, aureomycin, and terramycin. Proc. Soc. Ex. Biol. a. Med., 1952, vol. 79, No. 3, p. 539—540.
Weinberg E. D. The influence of antibiotics and amino acids on the production of pigments by Serratia. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 6, p. 785—792.
Werkman C. H. and Wilson P. W. Bacterial physiology. New York City, Academic Press Inc., 1951, 707 p.
Weygand F., Wacker A. und Dellweg H. Stoffwechseluntersuchungen bei Mikroorganismen mit Hilfe radioaktiver Isotope. II. Kompetetive und nichtkompetetive Enthemmung von 5^{82}-Br-Uracil. Z. Naturforsch., 1952, Bd. 7b, H. 1, S. 19—25.
Weygand F. und Wacker A. Stoffwechseluntersuchungen bei Mikroorganismen mit Hilfe radioaktiver Isotope. III. Aufnahme von 5^{82}-Br-Uracil durch Enterococcus und E. coli. Z. Naturforsch., 1952, Bd. 7b, H. 1, S. 26—28.

White J. Variation in water content of yeast cells caused by varying temperatures of growth and by other cultural conditions. J. Inst. Brew., 1952, vol. 58, No. 1, p. 47—50.
Whitehead H. R., Hunter G. J. E. and Cox G. A. Inhibition of bacterial growth by bacteriophage as distinct from lytic action. J. Gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 1/2, p. 21—29.
Whiteley H. R. The fermentation of purines by Micrococcus aerogenes. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 2, p. 163—175.
Whiteside-Carlson V. and Rosano C. L. The nutritional requirements of Leuconostoc dextranicum for growth and dextran synthesis. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 5, p. 583—589.
Wikén T. and Richard O. Untersuchungen über die Physiologie der Weinhefen. II. Mitteilung. Wachstumsbedingungen weitere auxo-autotropher, schweizerischer Kulturweinhefen. Antonie von Leewenhoek, 1952, vol. 18, No. 1, p. 31—44.
Williams R. B. and Dawson R. M. C. The biosynthesis of L-cystine and L-methionine labelled with ^{35}S. Biochem. J., 1952, vol. 50, No. 3, p. XXI.
Wood H. G. and Leayer F. Fermentation of glucose-3,4-C^{14} and glucose-1-C^{14} by Propionbacterium arabinosum. Ferment Proc., 1952, vol. 11, No. 1, part II, p. 313.
Wooley J. G., Murphy M. K., Bond H. W. and Perrine T. D. The effect of certain chemical compounds on the multiplication of T_2 bacteriophage. J. Immunol., 1952, vol. 68, No. 5, p. 523—530.
Wright L. D., Cresson E. L., Liebert K. V. and Skeggs H. R. Biological studies of biocytin. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 8, p. 2004—2006.
Wright L. D., Cresson E. L., Skeggs H. R., Wood Th. R., Peck R. L. and Wolf D. E. Isolation of crystalline biocytin from yeast extract. J. Amer. Chem. Soc., 1952, vol. 74, No. 8, p. 1996—1999.
Wright L. D., Cresson E. L., Skeggs H. R., Peck R. L., Wolf D. E., Wood J. V. and Folkers K. The elucidation of biocytin. Science, 1951, vol. 114, No. 2972, p. 635—636.
Young L., Morrison A. R. and Whitehead J. E. M. Bacterial aryl-sulphatase. Nature, Lond., 1952, vol. 169, No. 4304, p. 711—712.
Zelitch I., Rosenberg E. D., Burris R. H. and Wilson P. W. Comparison of the metabolism of ammoni and molecular nitrogen in Clostridium. J. Bact., 1951, vol. 62, No. 6, p. 747—752.

ХРОНИКА

ПОСТАНОВЛЕНИЕ ПРЕЗИДИУМА АКАДЕМИИ НАУК СОЮЗА ССР

от 22 мая 1953 г. № 251 г. Москва

Об итогах совещания, посвященного проблемам современной морфологии животных и критической оценке «эволюционной морфологии» А. Н. Северцова

Заслушав доклад проф. Г. К. Хрущова об итогах проведенного Отделением биологических наук 24—25 апреля 1953 г. совещания, посвященного проблемам современной морфологии животных и критической оценке «эволюционной морфологии» А. Н. Северцова, Президиум Академии наук СССР отмечает большое значение осуществленного совещанием критического пересмотра теоретических воззрений А. Н. Северцова, имевших широкое распространение в области морфологии животных.

Совещание констатировало серьезное отставание морфологии от общего уровня советской биологической науки, успешно развивающейся на основе мичуринской биологии, павловской физиологии и новой клеточной теории. Совещание показало, что до настоящего времени многие разделы морфологии животных далеки от запросов практики коммунистического строительства и мало содействуют разработке основных проблем советского творческого дарвинизма. Отсутствие творческих дискуссий и борьбы мнений по основным проблемам морфологии привело к серьезным разногласиям в оценке существующих теорий, в частности «эволюционной морфологии» А. Н. Северцова. Советские морфологи еще совершенно недостаточно разоблачают господствующие в капиталистических странах идеалистические реакционные теории в морфологии, оказывающие влияние на отдельных ученых нашей страны.

Часть советских ученых, вместо серьезного пересмотра основ морфологии, некритически переоценивают труды некоторых морфологов, объявляя развиваемые ими концепции полностью созвучными мичуринско-павловской биологической теории. К числу идейных предшественников И. В. Мичурина некоторые ученые ошибочно относят А. Н. Северцова.

В нашей учебной, научной и научно-популярной литературе за последние годы появилось немало оценок А. Н. Северцова, как последовательного материалиста. Его теория «ароморфоза», теория «филэмбриогенеза», так называемая «эктогенетическая теория» и другие теоретические представления положительно расцениваются в ряде учебников и пособий. Эти оценки не вскрывают коренные ошибки А. Н. Северцова, показывают значение его работ в неправильном свете и создают видимость благополучия с развитием материалистической теории в морфологии.

Первая философская оценка воззрений А. Н. Северцова, положившая начало представлению о Северцове, как о стихийном диалектике-материалисте, была сделана А. М. Дебориным не с позиций марксизма, а с ложных позиций меньшевиствующего идеализма. Эта оценка, продолжающая хождение в нашей научной, учебной и популярной литературе, должна быть решительно отвергнута как ненаучная и дезориентирующая морфологов.

А. Н. Северцов, в отличие от своих великих современников К. А. Тимирязева, И. В. Мичурина и И. П. Павлова не сумел правильно решить основной вопрос биологической науки об отношении организма и условий его существования. Он некритически принимал идеалистическую вейсманистскую трактовку этого вопроса и в ходе развития своих воззрений все более и более отрицательно оценивал доказательства прямого влияния условий внешней среды на организм и наследования свойств, приобретаемых организмами под влиянием условий жизни.

Вследствие неправильного понимания основной проблемы биологической науки неверными являются позиции А. Н. Северцова и в других общих проблемах биологии: проблемах отношения между индивидуальным и историческим развитием, проблемах закономерностей эволюционного процесса и др. Именно вследствие непонимания отношения организма и условий жизни А. Н. Северцов не мог не только решить, но даже поставить в морфологии животных ни одного вопроса для практики народного хозяйства.

Совещание показало, что теоретические воззрения А. Н. Северцова как неодарвинистские, не могут быть теоретической основой морфологических исследований на мичуринско-павловском этапе развития биологии.

Научное значение сохраняют труды А. Н. Северцова по вопросам сравнительной анатомии и эмбриологии позвоночных животных и его конкретные исследования по

филогении низших позвоночных. Совещание наметило также основные пути дальнейшего развития морфолого-зоологических исследований в свете требований, выдвигаемых передовой советской биологией и практикой коммунистического строительства.

Совещание отметило, что морфология животных как отрасль зоологии, изучающая форму, строение и развитие животных организмов, имеет все условия для плодотворного развития и решения важных проблем социалистического народного хозяйства и здравоохранения.

Совещание выдвинуло в качестве главной задачи всех разделов морфологии животных прямое и непосредственное участие в дальнейшей разработке принципов мичуринской биологии и павловской физиологии. На основе всемерного укрепления связи с практикой социалистического сельского хозяйства, звероводства и рыбоводства, с теорией и практикой здравоохранения, на основе широкого развертывания экспериментального метода морфология животных должна непосредственно включиться в разработку проблем единства форм и функции, единства организма и среды, наследования приобретаемых свойств, адэкватной изменчивости и др. проблем, выдвигаемых материалистической биологией и практикой коммунистического строительства.

Совещание показало, что только на пути конкретной разработки проблем материалистической биологии морфология животных сможет полноценно выполнить задачу вскрытия объективных законов индивидуального и исторического развития животных — одной из важнейших проблем биологической науки.

Президиум Академии наук СССР постановляет:

1. Утвердить резолюцию совещания (приложение).

2. Поручить Бюро Отделения биологических наук обсудить вопрос об улучшении работы Института морфологии животных им. А. Н. Северцова и о конкретных путях дальнейших исследований в области морфологии животных в свете решения и материалов совещания и организовать в 1954 г. совещание по проблемам гистологии и критическому пересмотру «эволюционной гистологии» А. А. Заварзина и Н. Г. Хлопина.

3. Считать необходимым широко осветить итоги совещания в биологических журналах АН СССР.

Президент Академии наук СССР
академик — *А. Н. Несмеянов*
Главный ученый секретарь
Президиума Академии наук СССР
академик — *А. В. Топчиев*

Резолюция

научного совещания, посвященного проблемам современной морфологии животных и критической оценке «эволюционной морфологии» А. Н. Северцова

24—26 апреля 1953 г.

Заслушав и обсудив доклад проф. Г. К. Хрущова «Критическая оценка «эволюционной морфологии» А. Н. Северцова и задачи современной морфологии животных», совещание, созванное Отделением биологических наук Академии наук СССР, констатирует серьезное отставание морфологии от общего уровня советской биологической науки, успешно развивающейся на основе мичуринской биологии, павловской физиологии и новой клеточной теории. До настоящего времени многие разделы морфологии животных далеки от запросов практики коммунистического строительства и мало содействуют разработке основных проблем советского творческого дарвинизма. Отсутствие творческих дискуссий и борьбы мнений по основным проблемам морфологии привело к серьезным разногласиям в оценке существующих в морфологии теорий, в частности «эволюционной морфологии» А. Н. Северцова. Советские морфологи еще совершенно недостаточно разоблачают идеалистические реакционные теории в морфологии, господствующие в капиталистических странах.

На основе свободной творческой дискуссии, вскрывшей крупные ошибки и недостатки теоретических построений А. Н. Северцова, а также определившей некоторые перспективы перестройки морфологии на основе мичуринской биологии, павловской физиологии и новой клеточной теории, совещание постановляет:

1. Одобрить в основном доклад Г. К. Хрущова, представленный совещанию.

2. Просить Бюро Отделения биологических наук опубликовать:

а) доклад Г. К. Хрущова;

б) основные материалы совещания (обзор выступлений и резолюцию совещания).

3. Просить Бюро ОБН на основе материалов совещания разработать предложения об улучшении работы Института морфологии животных им. А. Н. Северцова как ведущего учреждения, разрабатывающего проблемы морфологии, и о конкретных путях дальнейшего развития советской морфологии.

Совещание призывает советских морфологов к дальнейшему критическому пересмотру теорий, получивших распространение в морфологии, в частности «эволюционной морфологии» А. Н. Северцова, «эволюционной гистологии» А. А. Заварзина и др. Совещание призывает советских морфологов к активному участию в перестройке морфологии животных на основе передовой материалистической биологической науки.

СОДЕРЖАНИЕ XXII тома

От ЦК КПСС, Совета Министров Союза ССР и Президиума Верховного Совета СССР 129

Абелев Г. И. и Соловьев Н. И. Метод приготовления препаратов для электронной микроскопии из солевых растворов . . 707

Абрамович В. В. О способах дифференцированной окраски спорулирующей культуры винных дрожжей 539

Авдиевич Н. М. Миксобактерии, лизирующие мицелий Penicillium 38

Авдонин Н. С. и Худякова Ю. А. Гранулы для азотобактера 431

Артамонова О. И. См. Красильников Н. А. 3

Баринова С. А. Влияние углекислоты на рост плесневых грибов 391

Баринова С. А. К вопросу о значении углекислоты для жизнедеятельности плесневых грибов. I. О возможности замены углекислоты органическими кислотами 497

Беренштейн А. Ф. и Нахманович Б. М. Влияние перемешивания на интенсивность сбраживания растворов кормовой патоки дрожжами Sacch. cerevisiae (раса Я.) 179

Бирюзова В. И. См. Раутенштейн Я. И. 11

Блинков Г. Н. Органические кислоты как продукты углеводного обмена азотобактера . . . 49

Блинков Г. Н. Продуктивность азотфиксации азотобактера сибирских почв 663

Бучин П. И. Элективные среды при изучении микробного антагонизма 304

Вагер Р. М. Столбурное увядание картофеля 198

Винберг Г. Г. и Ломоносова М. С. Общее число бактерий и скорость потребления кислорода в водах разной степени загрязнения 294

Галикеев Х. Л. О бактерицидных свойствах зеленых листьев растений 59

Гапоненков Т. К. См. Черемисинов Н. А. 359

Глаголева Р. М. См. Работнова И. Л. 506

Гладкова В. Н., Мардашев С. Р. и Семина Л. А. Новый микроб, содержащий декарбоксилазу *l*-гистидина 141

Гогоберидзе Р. Г. О применении метода оседания для количественного анализа воздуха . 308

Горленко М. В. А. А. Ячевский как миколог и фитопатолог (1863—1932) (к 20-летию со дня смерти) 602

Громыко Е. П. См. Наумова А. Н. 43

Дараселия Н. А. О наличии в почве бактерий антагонистов к Phoma tracheifila — возбудителю «мальсекко» 203

Дерябина Е. Н. Получение фагорезистентных штаммов молочнокислых стрептококков с ценными для производства свойствами 452

Диканская Э. М. Исследования по физиологии питания гриба Eremothecium ashbyii . . . 256

Диканская Э. М. Люминесцентно-микроскопические наблюдения над образованием и выделением рибофлавина микроскопическим грибом Eremothecium ashbyii 525

Егоров Н. С. И. Г. Шиллер. Направленный антагонизм микробов (рецензия) 480

Жданов В. М. О построении филогенетической систематики вирусов (дискуссия) 206

Жуматов Х. Ж. К вопросу о фильтрующихся формах микроорганизмов и их взаимосвязи с вирусами (дискуссия) . . . 580

Журавлев И. И. и Скабичевская Т. П. Патогенность гриба Alternaria в отношении всходов хвойных пород в таежной зоне 719

Зильбер Л. А. О природе вирусов и их происхождении (дискуссия) 81

Золковер А. М. См. Раутенштейн Я. И. 11

Израильский В. П. Фильтрующиеся формы клубеньковых бактерий 645
Имшенецкий А. А. Памяти В. Л. Омелянского 361
Имшенецкий А. А. Николай Григорьевич Холодный . . . 637
Имшенецкий А. А. Памяти Виноградского 639
Имшенецкий А. А. и Перова К. З. Амилолитическая активность складчатых рас Asp. niger 133
Имшенецкий А. А. и Рубан Е. Л. Получение чистых культур Nitrosomonas 376

Калина Г. П. Стадийное развитие микробов — объективная реальность (дискуссия) . . . 95
Калина Г. П. Эмбриогенез и онтогенез микробов 723
Карагуйшиева Д. См. Теплякова З. Ф. 164
Кардо-Сысоева Е. К. и Утенкова-Ранцан В. А. О выходе спирта при дрожжевом брожении. I. Учет фактического выхода спирта при сбраживании древесных гидролизатов . 551
Кардо-Сысоева Е. К. и Утенкова-Ранцан В. А. О выходе спирта при дрожжевом брожении. II. Значение расы и условий воспитания дрожжей для спиртового брожения 682
Квасников Е. И. и Сумневич М. Г. Молочнокислые бактерии в эпифитной микрофлоре растений Средней Азии . . . 267
Кирова К. А. Морфологические и культуральные особенности термостойких дрожжей, выделенных из ржаного хлеба . . . 54
Комарова Л. И. Влияние четвертичных аммонийных соединений на дрожжи при различных условиях 566
Коновалов С. А. Эффективный антисептик против кислотообразующих бактерий 559
Коновалов С. А. Влияние некоторых антисептиков на амилазную активность солода . . . 689
Кононенко Е. В. См. Рыбалкина А. В. 439
Кореняко А. И. См. Красильников Н. А. 3
Корсакова М. П. Денитрифицирующие микроорганизмы (обзор) 215
Космачев А. Е. Термофильные актиномицеты (обзор) 730
Красильников Н. А., Кореняко А. И. и Артамонова О. И. Распространение актиномицетов антагонистов в почвах 3
Кривиский А. С. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве. Тр. конф. по микроб. 1950 г. (Рецензия) . . 752
Крисс А. Е. О пригодности для прямого счета мембранных ультрафильтров, выпускаемых для санитарно-бактериологического анализа воды 69
Крючкова Н. П. О выживаемости микроорганизмов в лечебных грязях 445
Куликов В. А. Формирование клейстокарпий у гриба Sphaerotheca mors-uvae в зависимости от температуры и влажности воздуха 194
Купрейчик М. А. О фильтрующихся формах желтой сарцины 535

Лойцянская М. С. О новом виде уксуснокислых бактерий 263
Лойцянская М. С. Изменчивость уксуснокислых бактерий 511
Ломова Н. И. Целлюлозные микроорганизмы желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота 155
Ломоносова М. С. См. Винберг Г. Г. 294

Мардашев С. Р. См. Гладкова В. Н. 141
Мейсель М. Н. и Трофимова Н. П. Новый микробиологический метод определения триптофана 385
Мирзоева В. Ш. и Тюнина Е. В. О содружестве науки и производства 79
Митрофанова Н. С. Изменения микрофлоры почв степей под влиянием лесопосадок . . 275
Митюшова Н. М. О соотношении процессов размножения и окисления у Acetobacter suboxydans в зависимости от состава среды 249
Мишустин Е. Н.— М. М. Кононова. Проблема почвенного гумуса и современные задачи его изучения (рецензия) 344
Мишустин Е. Н. О распространении азотобактера в почвах . 408
Мошковский Ш. Д. О принципах классификации возбудителей вирусных инфекций (дискуссия) 325

Наумова А. Н. Накопление токсических веществ в сероземной почве под культурой люцерны. 281
Наумова А. Н. и Громыко Е. П. Влияние отработанного гумбрина на микрофлору сероземной почвы 43
Нахманович Б. М. См. Беренштейн А. Ф. 179
Немлиенко Ф. Е. О возбудителе бактериоза початков кукурузы 64
Нечаева Н. Б. Образование метана микроорганизмами (обзор) 456
Нюкша Ю. П. Физиологическое изучение гриба Gymnoascus setosus Eidam 15

Нюкша Ю. П. Действие бактерицидного облучения на споры грибов 678

Ованесян Т. Т. Влияние фитонцидов чеснока на возбудителя мускардины тутового шелкопряда 61
Осницкая Л. К. Распространение гнилостных, тионовокислых, метанокисляющих и водородокисляющих бактерий в грунтах Северного Каспия . . . 399

Павловский Г. Т. Способ изготовления бактериологических препаратов для электронной микроскопии 704
Перова К. З. См. Имшенецкий А. А. 133
Петрушова Н. И. Исследование антагонистических свойств актиномицетов по отношению к фитопатогенным грибам . . . 577
Постановление Президиума АН СССР об утверждении постановления VIII сессии Научного совета по проблемам физиологического учения акад. И. П. Павлова при Президиуме АН СССР. 357
Постановление Президиума АН СССР о результатах конференции по итогам и перспективам работ по изучению неклеточных форм живого вещества . . . 629
Постановление Президиума АН СССР Об итогах совещания, посвященного проблемам современной морфологии животных и критическ. оценке «Эвол. морфологии» А. Н. Северцова. 763
Проценко А. Е. Электроноскопическое изучение фитопатогенных вирусов 709
Пушкинская О. И. Конференция по планированию работ в области почвенной микробиологии в системе учреждений АН СССР и академий союзных республик 635

Работнова И. Л.—В. О. Таусон. Основные положения растительной биоэнергетики (рецензия) 113
Работнова И. Л. Приоритет русских исследователей в вопросах спиртового брожения . 740
Работнова И. Л. и Глаголева Р. М. Обогащение субстрата азотистыми веществами при развитии Azotobacter agile и Azotobacter chroococcum . 506
Работнова И. Л. и Родионова Г. С. Обогащение субстрата азотистыми веществами при развитии Azotobacter Beijerinckii 415
Раутенштейн Я. И., Тихоненко А. С., Бирюзова В. И. и Золковар А. М. Наблюдения за лизисом актиномицета под влиянием актинофага при помощи электронного микроскопа 11
Родзевич В. И. См. Феникова Р. В. 145
Родина А. Г. Развитие железобактерий при зеленом удобрении рыбоводных прудов . . 171
Родионова Г. С. См. Работнова И. Л. 415
Родопуло А. К. О реакции карбоксилирования пировиноградной кислоты дрожжами . . 530
Рубан Е. Л. О применении ультразвуковых колебаний в микробиологии 23
Рубан Е. Л. Заседание, посвященное памяти В. Л. Омелянского 495
Рубан Е. Л. Конференция по проблеме «Неклеточные формы жизни» 631
Рубан Е. Л. См. Имшенецкий А. А. 376
Рудаков К. И.—М. В. Федоров. Биологическая фиксация азота. (рецензия) 619
Рыбалкина А. В. и Кононенко Е. В. Непосредственное наблюдение микрофлоры в почве модифицированным методом Холодного 439

Сегаль Р. Б. См. Феникова Р. В. 145, 543
Сентябрьский Пленум ЦК КПСС и задачи микробиологии 641
Сербинова Н. И. и Сокольская Е. В. Сбраживание кормовой патоки низовыми пивными дрожжами 695
Семина Л. А. См. Гладкова В. Н. 141
Ситникова А. С. См. Теплякова З. Ф. 164
Скабичевская Т. П. См. Журавлев И. И. 719
Смирнова В. А. Элементарные тельца при мозаичной болезни лука 572
Смирнова В. А. О пригодности дурмана (Datura stromonium) для определения титра вируса табачной мозаики 714
Сокольская Е. В. См. Сербинова Н. И. 695
Солнцева Л. И. К методике изучения фильтрующихся форм бактерий 151
Солнцева Л. И. Гигантские бактериальные клетки и фильтрующиеся формы 652
Соловьев Н. Н. См. Абеев Г. Н. 707
Страхов Т. Д. Патологический процесс у растений и дегенерация возбудителей головни. II. Дегенерация возбудителей головни вне тканей растения и факторы среды 185
Стрешинский М. О.—Г. П. Калина. Вегетативная гибридизация бактерий (рецензия) . . . 232

Сумневич М. Г. См. Квасников Е. И. 267
Сухов К. С. О природе вирусов (дискуссия) 316

Тарасевич Л. М. К вопросу о получении безжелтушных выкормок тутового шелкопряда . . 311
Теплякова З. Ф., Ситникова А. С., Карагуйшиева Д. Распространение азотобактера в некоторых почвах Казахстана . 164
Тихоненко А. С. См. Раутенштейн Я. И. 11
Трофимова Н. П. См. Мейсель М. Н. 385
Тюнина Е. В. См. Мирзоева В. Ш. 79

Успенская В. И. Изучение физиологии питания Os. splendida Grew. и Os. agardhii Gom. в связи с образованием и накоплением запахов и привкусов воды. I. Опыты на искусственных питательных растворах . 517
Успенская В. И. Изучение физиологии питания Os. splendida Grew. и Os. agardhii Gom. в связи с образованием и накоплением запахов и привкусов воды. II. Опыты на грунтах . . 669
Утенкова-Ранцан В. А. См. Кардо-Сысоева Е. К. 551, 682

Федоров М. В. Промежуточные переносчики водорода и их значение в процессах дыхания (обзор) 586
Феникова Р. В. Плесневые грибы из рода Aspergillus как продуценты амилазы. I. Об амилолитических ферментных системах у двух видов грибов Aspergillus 28
Феникова Р. В., Сегаль Р. Б., Родзевич В. И. и Шилова А. А. Плесневые грибы из рода Aspergillus, как продуценты амилазы. II. Активность амилазы гриба Asp. oryzae в зависимости от условий выращивания на твердых естественных средах 145
Феникова Р. В. и Сегаль Р. Б. Плесневые грибы из рода Aspergillus как продуценты амилазы. III. Влияние условий выращивания на конидиеобразование гриба Asp. oryzae . . . 543

Хренова Г. С. К вопросу об определении антагонистической способности почвы 685
Худякова Ю. А. См. Авдонин Н. С. 431

Черемисинов Н. А. и Гапоненков Т. К. Памяти проф. И. Д. Буромского 359

Шаинская И. М. Выделение и подбор активных культур уксуснокислых бактерий для производства спиртового уксуса. . 72
Шапошников В. Н. О книге С. Н. Виноградского «Микробиология почвы» 358
Шемаханова Н. М. Совещание по микотрофному питанию древесных пород 633
Шилова А. А. См. Феникова Р. В. 145
Шорин В. А.—П. Н. Кашкин. Антибиотики и их практическое использование (рецензия) . . 347
Штерн Е. А. Серологическая характеристика клубеньковых бактерий. II. 423
Штерн Е. А. Серологическая характеристика клубеньковых бактерий. II. 656
Штурм Л. Д. В. Л. Омелянский. Его жизнь и научная деятельность (краткий очерк) . . 363
Шулындин А. Ф. Повышение эффективности соевого нитрагина путем селекции сортов сои с высокой восприимчивостью к клубеньковым бактериям . . 288

Библиография 119. 239, 350, 485, 621, 757
Рефераты 108, 228, 338, 472, 611, 744

СОДЕРЖАНИЕ

Сентябрьский Пленум ЦК КПСС и задачи микробиологии 641

Экспериментальные статьи

В. П. Израильский. Фильтрующиеся формы клубеньковых бактерий. I. . 645
Л. И. Солнцева. Гигантские бактериальные клетки и фильтрующиеся формы. 652
Е. А. Штерн. Серологическая характеристика клубеньковых бактерий. II. . . 656
Г. Н. Блинков. Продуктивность азотфиксации азотобактера сибирских почв. 663
В. И. Успенская. Изучение физиологии питания Os. splendida Grew. и Os. agardhii Gom. в связи с образованием и накоплением запахов и привкусов воды. II Опыты на грунтах 669
Г. С. Хренова. К вопросу об определении антагонистической способности почвы. 675
Ю. П. Нюкша. Действие бактерицидного облучения на споры грибов. . . . 678
Е. К. Кардо-Сысоева и В. А. Утенкова-Ранцан. О выходе спирта при дрожжевом брожении. II. Значение расы и условий воспитания дрожжей для спиртового брожения 682
С. А. Коновалов. Влияние некоторых антисептиков на амилазную активность солода 689
Н. И. Сербинова и Е. В. Сокольская. Сбраживание кормовой патоки низовыми пивными дрожжами 695
Г. Т. Павловский. Способ изготовления бактериологических препаратов для электронной микроскопии 704
Г. И. Абелев и Н. Н. Соловьев. Метод приготовления препаратов для электронной микроскопии из солевых растворов 707
А. Е. Проценко. Электроноскопическое изучение фитопатогенных вирусов. . 709
В. А. Смирнова. О пригодности дурмана (Datura stromonium) для определения титра вируса табачной мозаики 714
И. И. Журавлев и Т. П. Скабичевская. Патогенность гриба Alternaria в отношении всходов хвойных пород в таежной зоне 719
Г. П. Калина. Эмбриогенез и онтогенез микробов 723

Обзоры

А. Е. Космачев. Термофильные актиномицеты 730

История отечественной науки

И. Л. Работнова. Приоритет русских исследователей в вопросах химизма спиртового брожения 740

Рефераты

Общая микробиология, морфология, физиология и биохимия 744

Критика и библиография

А. С. Кривиский. Вопросы микробиологии в виноделии и виноградарстве. Труды конференции по микробиологии. 1950 г. 752
Библиография 757

Хроника

Постановление Президиума АН СССР «Об итогах совещания, посвященного проблемам современной морфологии животных и критической оценке «эволюционной морфологии» А. Н. Северцова 763

Содержание XXII тома 765

Т-09412 Подписано к печати 10/XII 1953 г. Печ. л. 10,96 + 2 вклейки
Уч.-изд. л. 13,4 Формат бум. 70×108 1/16. Бум. л. 4 Тираж 5825 экз. Зак. 1775

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва. Шубинский пер., 10

Цена 12 руб.